本多和樹

睡眠と睡眠物質

【解説】

睡眠覚醒調節機構を明らかにしようとする研究では、睡眠覚醒制御物質の生理的役割を知ることが重要である。最近、食欲調節神経ペプチドとして同定されたオレキシンが覚醒作用もあわせもっているように、動物は生きるために必要な行動を同じ物質でまかなうという、きわめて効果的な生命活動を営んでいる。分子生物学の進歩により睡眠異常の動物モデルが利用できるようになったことで、睡眠障害の病態生理が解明され、新規治療薬の開発や治療法改善が期待されている。

Sleep and Sleep Substances
Kazuki HONDA, 東京医科歯科大学生体材料工学研究所

睡眠覚醒調節には2つの法則がある。第1の法則は時刻依存性で、体内時計による1日を周期とした睡眠覚醒のサーカディアンリズムである。これは、昼間に眠ろうとしても眠れず夜になると次第にねむくなる現象のことである。第2の法則は時刻に依存せず、覚醒時間の長さによって睡眠の質と量が決定されるものである。徹夜あるいは長時間覚醒を続けた際に起こる眠気と睡眠欲求の高まりに比例し、脳内に何らかの睡眠を促す物質が出現していると考えられ、ホメオスタシス現象と呼ばれている。この法則はBorbélyによって提唱され¹⁾、第1の法則はプロセスCであり、第2の法則プロセスSに相当する2過程モデルで説明できる(図1)。

睡眠覚醒調節には、脳ニューロン活動に基づく神経機構と、睡眠物質に基づく液性機構があり、これらの相互作用により脳の活動水準が制御されている。睡眠物質に関する研究は、20世紀初めに断眠した犬の脳や血液から“催眠性物質”あるいは“睡眠毒素(hypnotoxin)”を抽出したことに始まる。それから1世紀を経た現在、科学技術の進歩により、睡眠覚醒調節の分子機構が少しずつ明らかにされようとしている。本稿では、睡眠覚醒調節と睡眠物質について概説し、次いで睡眠障害ナルコレプシー^{*1}の原因とされるオレキシンの覚醒調節について解説する。

図1 ■ 2過程モデル

プロセスSは覚醒時間に比例して増加し睡眠を取ることで減少するが、断眠によりさらに増加する。Sは覚醒時間とともに増加するホメオスタシス現象で、睡眠物質の蓄積と関連し、徐波睡眠活動(δ パワー)を反映する。プロセスCはサーカディアンリズムで規定される過程で覚醒度を示し日中高くなる。プロセスSとプロセスCの差が実際の眠気である。(文献1)より改変)

^{*1} 耐えがたい昼間の眠気、情動刺激による脱力発作(カタブレキシシー)、入眠期の金縛り様症状の睡眠麻痺、入眠時幻覚、夜間睡眠中断を症状とする内因性睡眠障害である。イヌ・ナルコレプシーはその動物モデルで、ヒトと類似の症状を示す。

レム睡眠とノンレム睡眠

ヒトを含む哺乳動物と鳥には、覚醒、レム睡眠、ノンレム睡眠の3つの異なる状態が出現する。レム睡眠は大腦を活性化する眠りと捉えられ、脳の後方にある脳幹部、特に中脳橋被蓋部位が重要であると考えられている。一方、ノンレム睡眠は大腦を鎮静化するための眠りと考えられ、脳の前方にある前脳基底部や視索前野が重要と考えられている。深いノンレム睡眠で出現する徐波睡眠は、哺乳類や鳥類など恒温動物の特徴であるが、それ以下の動物では脳波上で徐波睡眠は観察されない。進化の過程で一定の体温を維持できる機構を獲得した恒温動物は、安定して脳機能を動作できるようになり、大腦皮質が発達した結果、レム睡眠とノンレム睡眠の両方が現われる真睡眠を獲得した^(2,3)。地球上のすべての動物は、環境の明期・暗期の日周リズムの中でエネルギーを取り込む活動期と、それ以外の休息期を設けている。特に大腦皮質の発達した恒温動物では、徐波睡眠を取ることで、脳を休ませ脳のエネルギーを節約する機構を進化の過程で獲得してきた。恒温動物の中でもヒトは、他の哺乳類と比較にならないほど大腦が発達しており、大腦の機能回復に睡眠が重要であるということに疑う余地はない。動物にとって睡眠は、覚醒中の脳活動による脳のオーバーヒートを防ぐため、脳を休息させる状態と考えられ、睡眠が不足すると、集中力、記憶力、思考力などの高次機能の低下や身体疲労が起こる。したがって、正常な睡眠および覚醒の維持が、心身の健康に重要であることを我々は日常的にも経験している。

睡眠覚醒の液性機構

睡眠物質とは、睡眠欲求の高い動物の脳内あるいは体液中に出現し、生理的睡眠を誘発あるいは維持させる内因性物質の総称である⁽⁴⁾。筆者らは、睡眠覚醒調節の第2の法則であるホメオスタシス現象に基づいて、睡眠欲求の高い動物の脳内に出現すると考えられる睡眠物質2種類を断眠ラット脳から抽出し、それぞれウリジンおよび酸化型グルタチオン(GSSG)であることを同定した。さらに、ウリジンとGSSGの睡眠促進効果を睡眠物質脳内デリバリーシステムを用いて検証し報告した^(5,6)。ウリジンは脳内で抑制性の γ -アミノ酪酸作動性ニューロンを促進し、GSSGは興奮性のグルタメート作動性ニューロンを抑制することで、それぞれの睡眠促進効果を発現すると考えている。

GSSGには睡眠促進作用以外に、ニューロンの過活動

によって生じる細胞毒の解毒や、生体酸化反応によって生成されたフリーラジカル類を除去し生体を保護する作用がある。脳は生体内で最も酸素消費量が多く、高い酸素消費率に伴い、グルコースをエネルギー源として酸化している。覚醒中に活動し酸素を利用する過程で、脳ニューロンが排出する老廃物や、細胞にダメージを与える活性酸素を除去する必要がある。生体はこれら有害な活性酸素類を除去するために、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)や、グルタチオンペルオキシダーゼ(GSHPx)などの抗酸化酵素を防御機構として備え、進化の過程を生き残ってきたと考えられる。

GSSGは、生体内では抗酸化反応によって還元型グルタチオン(GSH)からGSHPxを利用して生成されることから、睡眠過程そのものが脳の修復や保全の機能を有していると考えている⁽⁷⁾。GSSGによる睡眠誘発作用は、脳内における有害物質による酸化的損傷に対する生体防御機構の一つかもしれない。その他に睡眠修飾作用をもつ物質として、プロスタグランジン(PG)_{D2}をはじめ、サイトカイン類、ヌクレオシド類など数十にものぼる睡眠物質の候補が知られている⁽⁸⁾。

ヌクレオシド類のうちアデノシン(AD)は、古くから睡眠物質の候補と考えられていた。1980年代に、Radulovackiのグループを中心としたADの受容体作動薬を用いた研究から、AD受容体1型(A₁受容体)を介した睡眠作用が知られるようになった。一方、McCarleyらは、ネコの6時間断眠実験から、前脳基底部および皮質のAD遊離量が断眠時間と比例して徐々に増加し、断眠終了後の回復期では次第に遊離量が減少することを明らかにした⁽⁹⁾。前脳基底部にA₁受容体アンタゴニスト(cyclopentyltheophylline; CPT)を投与すると覚醒が増加し、ノンレム睡眠およびレム睡眠が減少した。さらに、前脳基底部に存在する“wake-active”ニューロンは、ADおよびA₁受容体アゴニスト(cyclohexyladenosine; CHA)の投与で神経活動が抑制され、CPT投与では逆に神経活動が促進された。したがって、ADはA₁受容体を介してこれらのニューロン活動を抑制することで睡眠を誘発すると考えられている。

睡眠促進効果発現には、A₁受容体以外にもA_{2a}受容体を介する機構の存在が早石らの研究から明らかにされている⁽¹⁰⁾。A_{2a}受容体アゴニスト(CGS21680)をラット吻側前脳基底部へ微量投与すると暗期の睡眠を促進し、前もってA_{2a}受容体アンタゴニスト(KF17837)を投与しておくとの睡眠促進効果は消失する。さらに、PGD₂の睡眠促進効果がA_{2a}受容体アンタゴニストの前処置により完全に阻害されたことから、PGD₂の睡眠促

進効果は A_{2a} 受容体を介して発現すると考えられている。PGD₂ は睡眠の液性因子としての研究が最も進展しており、AD を介した前脳基底部や視床下部における睡眠調節への生理的役割の解明が期待されている。

睡眠覚醒の神経機構

ノンレム睡眠は視床下部 (HT) から前脳基底部にかけ、レム睡眠は中脳後部から中脳橋被蓋部位にかけての脳幹部が重要と考えられている⁽¹¹⁾。脳幹にある青斑核 (locus coeruleus ; LC) に起源をもつノルアドレナリン (NA) 作動性ニューロンは覚醒で発火頻度が上昇し、ノンレム睡眠で活動を下げ、レム睡眠ではほとんど停止してしまう。背側縫線核 (dorsal raphe nucleus ; DR) を起源とするセロトニン (5HT) 作動性ニューロンは、NA ときわめてよく似たふるまいをする。一方、中脳から橋にかけての外背側被蓋核 (laterodorsal tegmental nucleus ; LDT) と脚橋被蓋核 (pedunculopontine tegmental nucleus ; PPT) を発するアセチルコリン (ACh) 作動性ニューロンは、NA、5HT とは逆に、レム睡眠で活動を高めるグループと覚醒とレム睡眠両方で活動が高まるグループがある。ヒスタミン (HA) 作動性ニューロンは、後部視床下部の結節乳頭核 (tuberomammillary nucleus ; TM) に起源をもち、覚醒で活動が増加するが、ノンレム睡眠で活動は低下し、レム睡眠ではほとんど停止する⁽¹²⁾。一方、視床下部前部 (preoptic/ anterior hypothalamic area ; POAH) には “sleep-active” ニューロンが存在し、ノンレム睡眠で特異的に活動する。また、腹外側視索前野 (ventrolateral preoptic nucleus ; VLPO) にもノンレム睡眠で活動するニューロンが存在し、覚醒時に活動する TM の HA ニューロンとの関連が注目されている。

睡眠障害ナルコレプシーの動物モデル

イヌ・ナルコレプシーはヒト・ナルコレプシーの自然発症動物モデルとして、スタンフォード大学睡眠研究所で飼育されている。イヌ・ナルコレプシーには、ヒトと同様に孤発性と家族性があり、家族性では常染色体劣性遺伝を示す。ナルコレプシーの基本的症状は、情動刺激によるカタプレキシー (情動脱力発作) と睡眠覚醒の分断である。ナルコレプシー犬を用いた一連の行動薬理学的実験結果から、ナルコレプシーの病態には、中枢におけるモノアミン系の機能低下とコリン系の感受性増大という脳内の生化学的バランスの乱れが関与すると考えら

れているが、特に、中脳ドーパミン系の機能低下が傾眠とカタプレキシーに強く関連している⁽¹³⁾。

1999 年、スタンフォード大学の Mignot のグループは、イヌ・ナルコレプシーの原因がオレキシン受容体の 2 型の遺伝子欠損であることを報告した⁽¹⁴⁾。一方、テキサス大学の柳沢らは、プレプロオレキシンノックアウトマウスを作製し、睡眠および行動解析した結果、オレキシンが産生されないマウスは、ヒトあるいはイヌのナルコレプシーとそっくりな症状を示すことを報告した⁽¹⁵⁾。さらに、ヒト・ナルコレプシーにおいては脳脊髄液中のオレキシンが測定限界以下であることや、オレキシンニューロンの欠損があることが判明したことから、過眠およびカタプレキシーを主症状とするナルコレプシーの病態に、オレキシン神経伝達障害が強く関与することが示唆された⁽¹⁶⁾。

オレキシンの覚醒作用

オレキシンは、オーファン G タンパク質共役型受容体の内因性リガンドとして、1998 年に同定された摂食調節作用を有する神経ペプチドである⁽¹⁷⁾。オレキシンには A と B があり、オレキシン A は 33 アミノ酸残基 (分子量 3,562)、オレキシン B は 28 アミノ酸残基 (分子量 2,937) からなる直線状ペプチドである。オレキシン受容体には 1 型 (OX₁R) と 2 型 (OX₂R) が存在する。OX₁R はオレキシン A に対する親和性がオレキシン B に対する親和性より 100 倍程度高く、OX₂R はオレキシン A、B 両者に対する親和性がほぼ同じである。オレキシン A の OX₁R と OX₂R に対する親和性はほぼ同じとされている。オレキシン受容体の脳内分布を調べてみると、海馬、視床、視床下部、DR には OX₁R と OX₂R の両受容体が存在するが、LC には OX₁R が、TM にはほとんど OX₂R が存在する (表 1)⁽¹⁸⁾。

オレキシン含有ニューロンの脳内投射部位 (起始核からの神経連絡がある部位) を見ると、視床下部では弓状核や室傍核周辺に強い投射があり、HA 神経の起始核である TM にも強い投射が見られる。視床下部以外でも

表 1 ■ オレキシン受容体の分布 (文献 18) より改変)

	OX ₁ R	OX ₂ R
HT (視床下部)	++	++
TM (結節乳頭核)	—	+++
LC (青斑核)	+++	—
DR (背側縫線核)	+	+
PPT (脚橋被蓋核)	++	+
LDT (外背側被蓋核)	++	+
VTA (腹側被蓋野)	++	++

図 2 ■ オレキシン神経の投射と睡眠状態における脳内の神経活動 (文献 19)より改変)

DR: 背側縫線核, LC: 青斑核, LDT/PPT: 外背側被蓋核/脚橋被蓋核, VTA: 腹側被蓋野, HT: 視床下部, VLPO: 腹外側視索前野, TM: 結節乳頭核

脳の広範な部位に投射が認められ、脳幹では LC や DR、大脳辺縁系では扁桃体基底核、中隔野、海馬に認められ、大脳皮質では頭頂葉や前頭前野に認められている⁽¹⁹⁾。オレキシン含有ニューロンは、視床下部外側部 (lateral hypothalamic area; LHA) に局在しており、睡眠覚醒調節に重要な LC, DR, LDT と PPT そして TM には特に強い神経投射があることから、睡眠覚醒調節へのオレキシンの役割が示唆される (図 2)。

そこで筆者らは、オレキシン A, B をラット第三脳室内に連続注入して睡眠覚醒への影響について検証した。その結果、オレキシン A, B ともに用量依存的なノンレム睡眠およびレム睡眠の抑制効果を検出した。同一の用量 (10 nmol) で比較すると、オレキシン A のほうが B よりも強い覚醒効果があった (図 3)。

さてオレキシンによる覚醒作用の発現には、どのような機構が関与するのであろうか？ イヌ・ナルコレプシーでは、皮質や視床において HA 含有量が減少しており、イヌ・ナルコレプシーの原因遺伝子が OX_2R であることや、正常ラットでは HA 神経の起始核である TM でほとんどが OX_2R を発現していることから、ナルコレプシーの病態生理に HA 調節機構の関与が示唆された。さらに、ラット視床下部における HA の遊離量は明期に低下し暗期の活動期に上昇することや、HA の合成酵素

図 3 ■ オレキシン A および B による覚醒効果の比較

オレキシン A および B を 50 μ l の生理食塩液に溶かし明期に 5 時間かけて雄ラット第三脳室内に連続注入すると、オレキシン A のほうが B より強い覚醒効果を発現した。*: $P < 0.05$

阻害剤である α -フルオロメチルヒスチジンのラット腹腔内投与では睡眠誘発効果がある⁽²⁰⁾。そこで、HA 神経による覚醒維持機構へのオレキシンの関与について検証した。ラット腹腔内投与で α -フルオロメチルヒスチジンを前処置し、オレキシン B をラット第三脳室内に連続注入すると、オレキシン B によって引き起こされる覚醒作用が抑制された。これは α -フルオロメチルヒスチジ

ンにより HA 合成が阻害された結果、HA 神経を介して発現するオレキシンの覚醒効果が抑制されたと解釈している。

桜井らは免疫組織学的解析から、オレキシン神経終末が TM の HA 神経細胞体に直接シナプスを形成していることをつきとめた。さらに、オレキシン A および B は HA 神経活動電位の頻度を上昇させることから、TM の HA 神経に OX_2R を介する神経支配の存在を電気生理学的に明らかにした⁽²¹⁾。そこで、H1 受容体アンタゴニスト（ピリラミン）とオレキシン A を組み合わせてラット第三脳室内に連続注入すると、オレキシン A の覚醒作用がピリラミン存在下で用量依存的に抑制された。また、H1 受容体ノックアウトマウス脳室内にオレキシン A を投与すると、野生型マウスで起こる覚醒反応がまったく消失したとの報告もある⁽²²⁾。したがって、オレキシンによって引き起こされる覚醒効果発現は、 OX_2R による HA 神経系の活性化が関与していると考えている。

さらに山中らは、オレキシン神経細胞を特異的に緑色蛍光タンパク質 (EGFP) として発現する遺伝子改変マウス (EGFP/Orexin マウス) を作製し、マウスの脳スライス標本を用いてオレキシン神経細胞への入力系を電気生理学的に解析した。その結果、オレキシン神経細胞は NA, 5HT によって活動が強く抑制されたが、ACh では活動を促進した⁽²³⁾。これらの神経伝達物質は、LC, DR, LDT, PPT に存在することから、睡眠覚醒調節においてオレキシン神経細胞が、投射先の神経細胞からポジティブもしくはネガティブのフィードバックを受けていることが示唆される。

今後、睡眠覚醒調節機構へのオレキシンの生理的役割が明らかにされることで、生命維持に重要な摂食と睡眠の生理的な関わりについて理解が深まることが期待される。さらに、ナルコレプシーマウスモデルが開発されたことで、ヒト・ナルコレプシーの病態生理が飛躍的に解明される可能性は高い。

*

睡眠現象を理解するには、睡眠覚醒制御物質の生理的役割を理解することが重要であると考えている。近年の分子生物学の進歩から、遺伝子変異マウスあるいはラットの睡眠異常動物モデルを利用することができるようになり、睡眠調節の分子機構が明らかにされ、睡眠物質の生理的な役割が少しずつ理解されるようになってきた。また、睡眠脳波解析技術の向上で、高精度に睡眠を測定できるようになり、睡眠に関連する遺伝子の働きを皮質脳波からある程度追跡可能となってきた⁽²⁴⁾。21 世紀の

睡眠科学では、まず“睡眠覚醒調節機構”の全容を明らかにしなければならないが、睡眠障害における新規治療薬の開発や治療法の改善、あるいは日常生活における快適な睡眠の確保に向けた努力も必要と思われる。今後の睡眠物質研究の進展が睡眠学に大きく貢献するものと期待される。

文献

- 1) A.A. Borbély: *Human Neurobiol.*, **1**, 195 (1982).
- 2) 鳥居鎮夫: “行動としての睡眠”, 青土社, 1984.
- 3) 北浜邦夫: “ヒトはなぜ夢を見るのか”, 文春新書, 文藝春秋, 2000.
- 4) 井上昌次郎, 本多和樹: “睡眠学ハンドブック”, 朝倉書店, 1994, p.116.
- 5) K. Honda, Y. Komoda, S. Nishida, H. Nagasaki, A. Higashi, K. Uchizono & S. Inoué: *Neurosci. Res.*, **1**, 243 (1983).
- 6) K. Honda, Y. Komoda & S. Inoué: *Brain Res.*, **636**, 253 (1994).
- 7) S. Inoué, K. Honda & Y. Komoda: *Behave. Brain Res.*, **69**, 91 (1995).
- 8) 井上昌次郎: “睡眠のメカニズム”, 朝倉書店, 1997, p.22.
- 9) R.E. Strecker, S. Morarity, M.M. Thakkar, T. Porkka-Heiskanen, R. Basheer, L.J. Dauphin, D.G. Rannie, C.M. Portas, R.W. Green & R.W. McCarley: *Behave. Brain Res.*, **115**, 183 (2000).
- 10) O. Hayaishi: *J. Appl. Physiol.*, **92**, 863 (2002).
- 11) 小山純正, 香山雪彦, 酒井一弥: “特集 睡眠障害”, 日本臨床社, 1998, p.48.
- 12) K. Sakai & S. Croshet: *Sleep Biological Rhythms*, **1**, 29 (2003).
- 13) 大倉睦美, 藤木通弘, 小津真理子, 神林 崇, 本多和樹, 西野精治: 神経進歩, **45**, 131 (2001).
- 14) L. Lin, J. Faraco, R. Li, H. Kadotani, W. Rogers, X. Lin, X. Qiu, P.J. Jong, S. Nishino & E. Mignot: *Cell*, **98**, 365 (1999).
- 15) R.M. Chemelli, J.T. Willie, C.M. Sinton, J.K. Elmquist, T. Scammell, C. Lee, J.A. Richardson, S.C. Williams, Y. Xiong, Y. Kisanuki, T.E. Fitch, M. Nakazato, R.E. Hammer, C.B. Saper & M. Yanagisawa: *Cell*, **98**, 437 (1999).
- 16) S. Nishino & Y. Yoshida: *Sleep Biological Rhythms*, **1**, 43 (2003).
- 17) T. Sakurai *et al.*: *Cell*, **92**, 573 (1998).
- 18) P. Trivedi, H. Yu, D.J. MacNeil, L.H.T. Van der Ploeg & X.-M. Guan: *FEBS Lett.*, **438**, 71 (1998).
- 19) T. Nambu, T. Sakurai, K. Mizukami, Y. Hosoya, M. Yanagisawa & K. Goto: *Brain Res.*, **827**, 243 (1999).
- 20) J.S. Lin: *Sleep Medicine Reviews*, **4**, 471 (2000).
- 21) A. Yamanaka, N. Tsujino, H. Fubahashi, K. Honda, J.I. Guan, Q.P. Wang, M. Tominaga, K. Goto, S. Shioda & T. Sakurai: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **290**, 1237 (2002).
- 22) Z.I. Hung, W.M. Qu, W.D. Li, T. Mochizuki, N. Eguchi, T. Watanabe, Y. Urade & O. Hayaishi: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 9965 (2001).
- 23) A. Yamanaka, Y. Muraki, N. Tsujino, K. Goto & T. Sakurai: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **303**, 120 (2003).
- 24) M. Tafti, B. Petit, D. Chollet, E. Neidhart, F. Bilbano, J. Z. Kiss, P.A. Wood & P. Franken: *Nat. Genet.*, **34**, 320 (2003).