

睡眠障害の動物モデル

角谷 寛

滋賀医科大学 睡眠行動医学講座 特任教授

はじめに

睡眠について問題を抱えている人は一般の人にも多く、成人の3割以上が入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒などの不眠の症状を有しており、6~10%程度の人が不眠症にかかっているといわれています(文献1)。睡眠障害についての研究には、ヒトを対象とした研究が中心ですが、実験動物を用いた研究は、睡眠生理や睡眠障害のメカニズム解明のためにも有用です。本稿では実験動物を使用した研究を中心に解説します。

ヒトと動物の睡眠

ヒトの眠りは、脳波、筋電図、眼電図を用いた終夜睡眠ポリグラフ検査によって、覚醒、レム睡眠(急速眼球運動や抗重力筋の脱力を伴い、夢見ていることが多い眠り)、ノンレム睡眠(レム睡眠以外の睡眠で、浅いまどろみの状態から、ぐっすり熟睡している状態まで含む)に分け

ることができます。生物種によって睡眠は異っており、ヒトを含めた哺乳類と鳥類では覚醒・レム睡眠・ノンレム睡眠に分類できますが、魚類、両生類、爬虫類などではそのような分類は困難となります。さらに、電気生理学的手法を用いた睡眠の判定が困難な魚類や昆虫や線虫などの睡眠を定義するために、行動睡眠という考え方も提唱されており、さまざまな動物種を用いた睡眠研究が行われています(表1、図1)(文献2)。

表1. 睡眠の特徴

	ヒト	マウス・ラット	ゼebra フィッシュ	ショウジョウ バエ	C- エレガ ンス
不動状態が長く持続する	○	○	○	○	○
反応閾値の上昇	○	○	○	○	○
概日リズムによる制御	○	○	○	○	X
断眠後のリバウンド	○	○	X	○	○
特有の眠り姿勢	○	○	○	○	○
生理学的相関	○	○	?	○	○
断眠後のパフォーマンス低下	○	○	?	○	○

文献2より改変

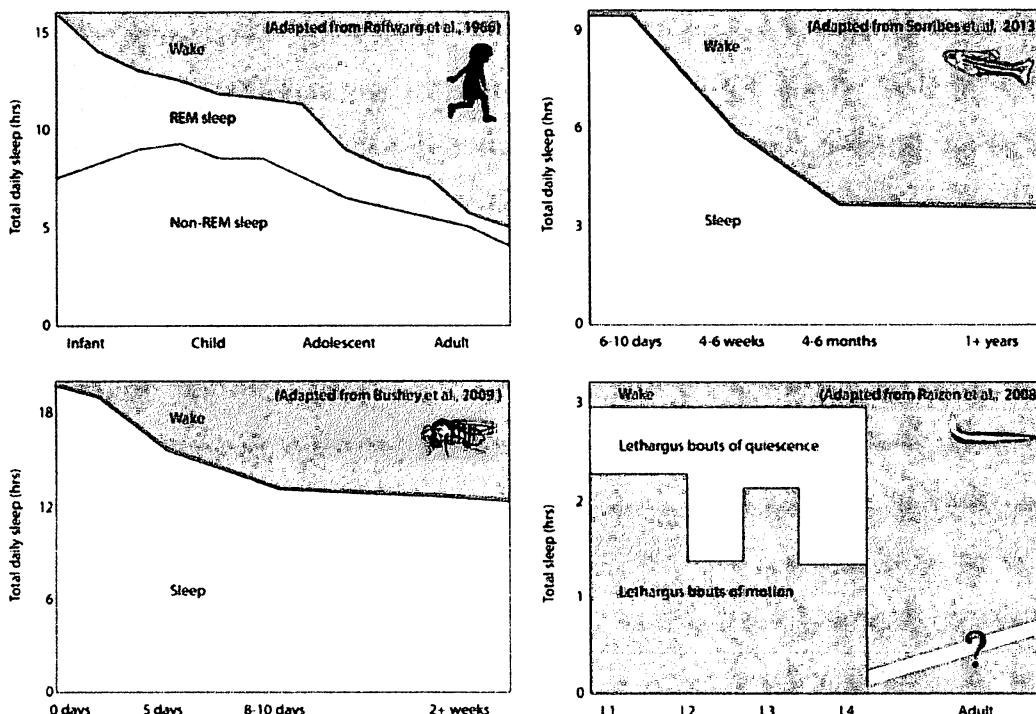


図1. 各動物種の睡眠量の成長に伴う変化

文献2より

睡眠障害の動物モデル

断眠実験

動物や人間に睡眠をとらせない(断眠)でいると、身体にどのような変化があるかを調べる実験です。マウスやラットに用いられる実験に、全く眠らせない全断眠と、レム睡眠の時に抗重力筋が脱力することをもちいたレム断眠があります(表2)(文献3)。特にレム断眠では、マウスやラットは水を嫌うことが用いられています。近年、マウスに中途覚醒を繰り返させて、睡眠断片化を引き起こす実験システムも使われています(図2)(文献4,5)。また、ショウジョウバエの実験でもハエを入れたチューブを動かすことで同様の断眠実験が行われています。

表2. 断眠実験法(マウス、ラット)

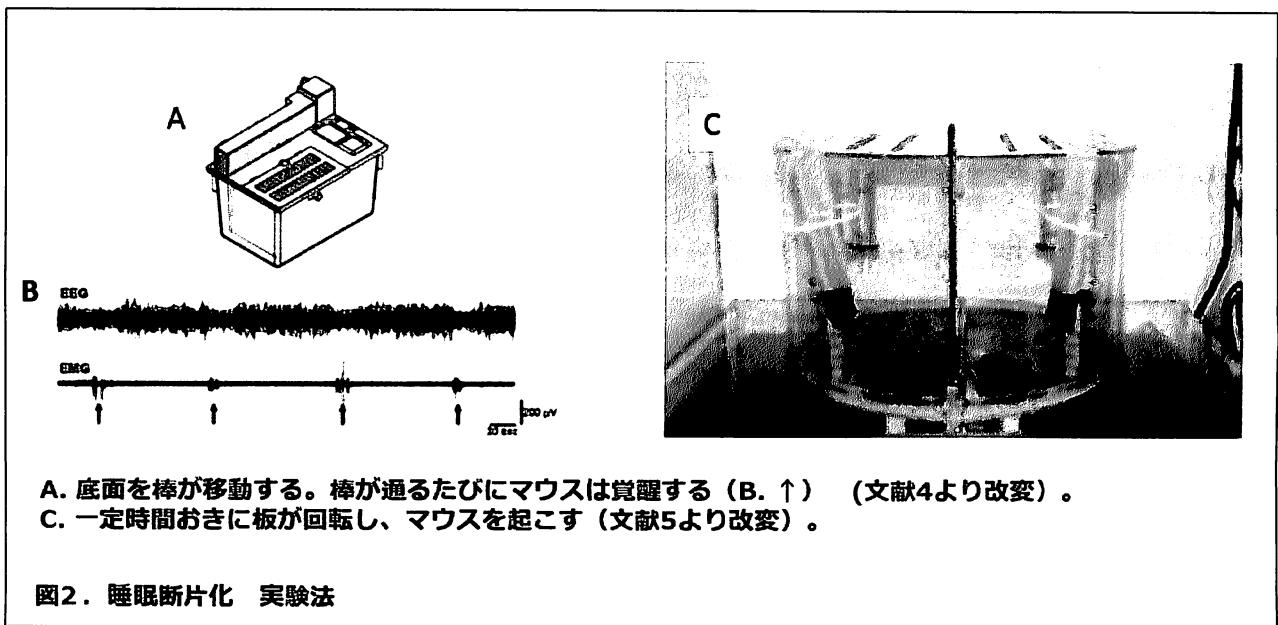
レム断眠

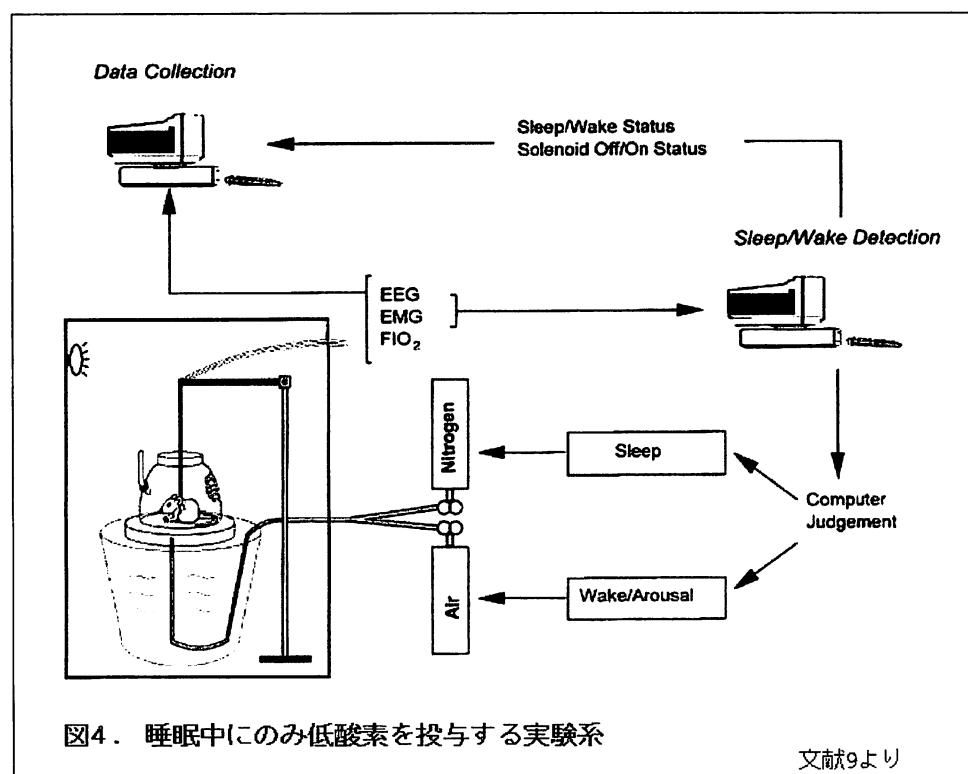
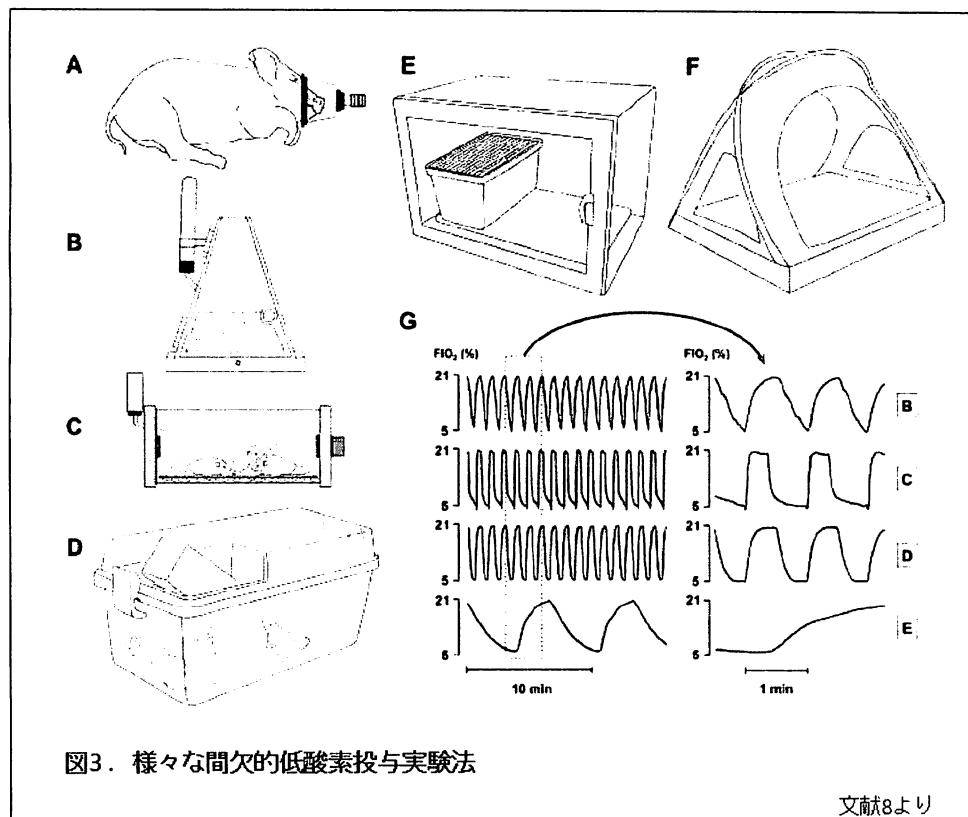
Multiple small platforms (MSP)	複数の小さなプラットフォーム(3~5cm)を水を入れた水槽に置く
Classical platform (CP)	直径4.5~10cmのプラットフォームを水を入れた水槽に置く
Grid over water (GOW)	水を張り、その上に格子(2cm間隔)を置く
全断眠	
Handling	研究者が観察し、眠ると優しく触れて起こしておく
Disc over water (DOW)	足元のディスクが回り、眠っていると水に落とすシステム

文献3より改変

間欠的低酸素

睡眠時無呼吸は米国一般人口の 10~17%が罹患しており(文献 6)、本邦における有病率もほぼ同様と考えられる頻度の高い睡眠障害です(文献 7)。睡眠中に限って、呼吸の停止(無呼吸)あるいは低酸素血症を伴った呼吸の減弱(低呼吸)をきたす疾患で、心血管疾患や高血圧、糖尿病、脂質異常症などの生活習慣病のリスクとなることが知られています(文献 7)。睡眠時無呼吸を自然発症するモデル動物として、ブルドック、肥満ミニチュア・ピッグがあり、また、気管切開後に気管チューブを間欠的に閉塞する外科的モデルが、イヌ、ヒツジ、ヒヒ、子ブタ、ラットなどで対象に行われてきました(文献 8)。非外科的なモデルとして、低酸素と再酸素化を繰り返し投与する間欠的低酸素による実験系があります。間欠的低酸素を投与する装置として、さまざまなタイプのものが考案されています(図3)(文献 8)。睡眠時のみに低酸素を投与する実験系も考案されていますが(図4)(文献 9)、あまり使われておらず、睡眠・覚醒には無関係に間欠的低酸素を投与する実験系が多く用いられています。間欠的低酸素の投与間隔や期間(数時間~数週間)に関して、さまざまなプロトコールで行われ、その影響が解析されています(図3 G、図5)(文献 8, 10)。





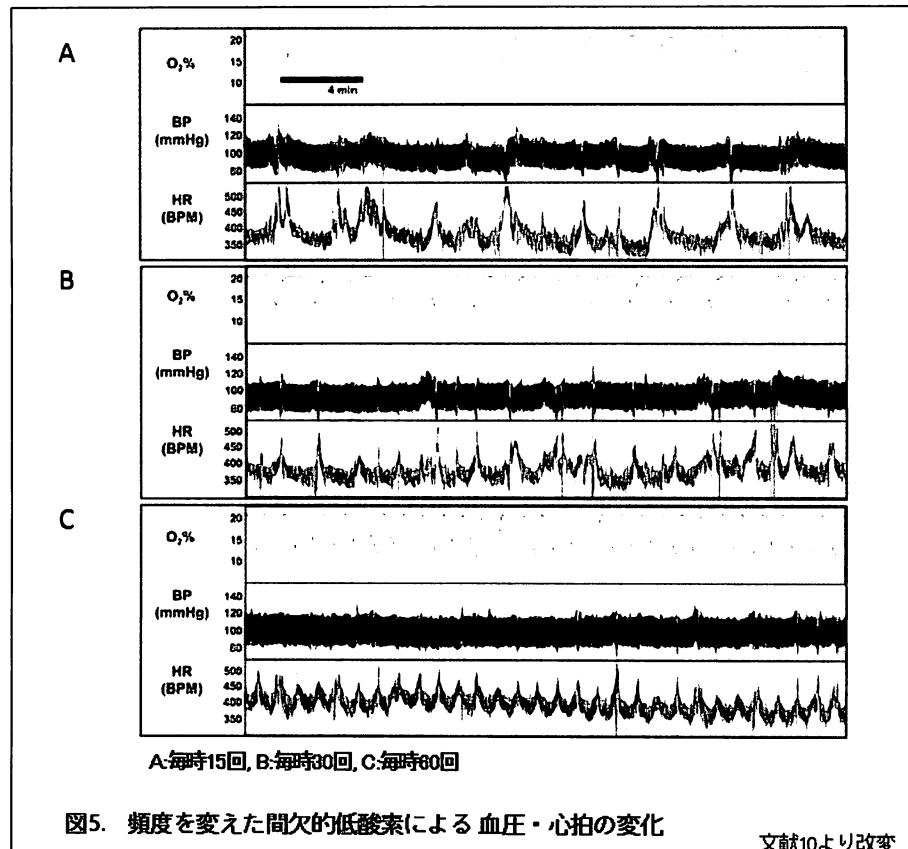


図5. 頻度を変えた間欠的低酸素による血圧・心拍の変化

文献10より改変

遺伝子改变動物

遺伝子の生体における役割を解析するために、遺伝子を改変したモデル動物も用いられています。動物の遺伝子操作技術も進み、恒常的な遺伝子欠損(ノックアウト:KO)動物やトランスジェニック(TG)動物に加えて、臓器あるいは組織特異的に遺伝子を操作したコンディショナル KO/TG も作成され使用されています。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り、ハロドー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・覚醒を操作することもできるようになってきました(図 6)(文献 11)。

遺伝子改变動物実験とヒト研究の融合

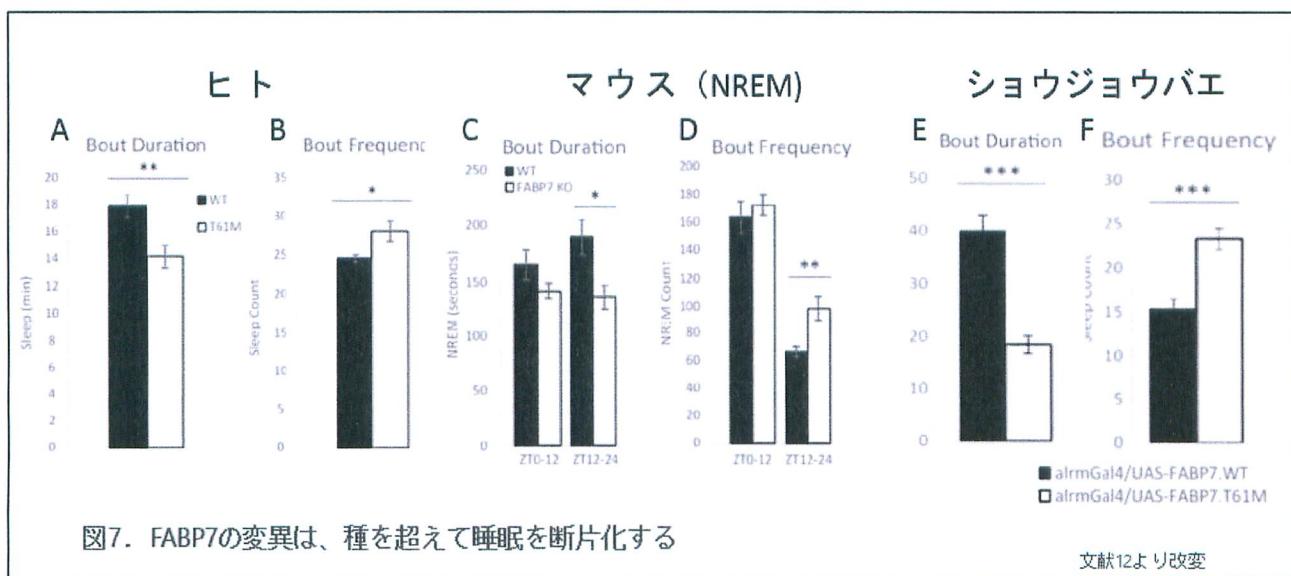
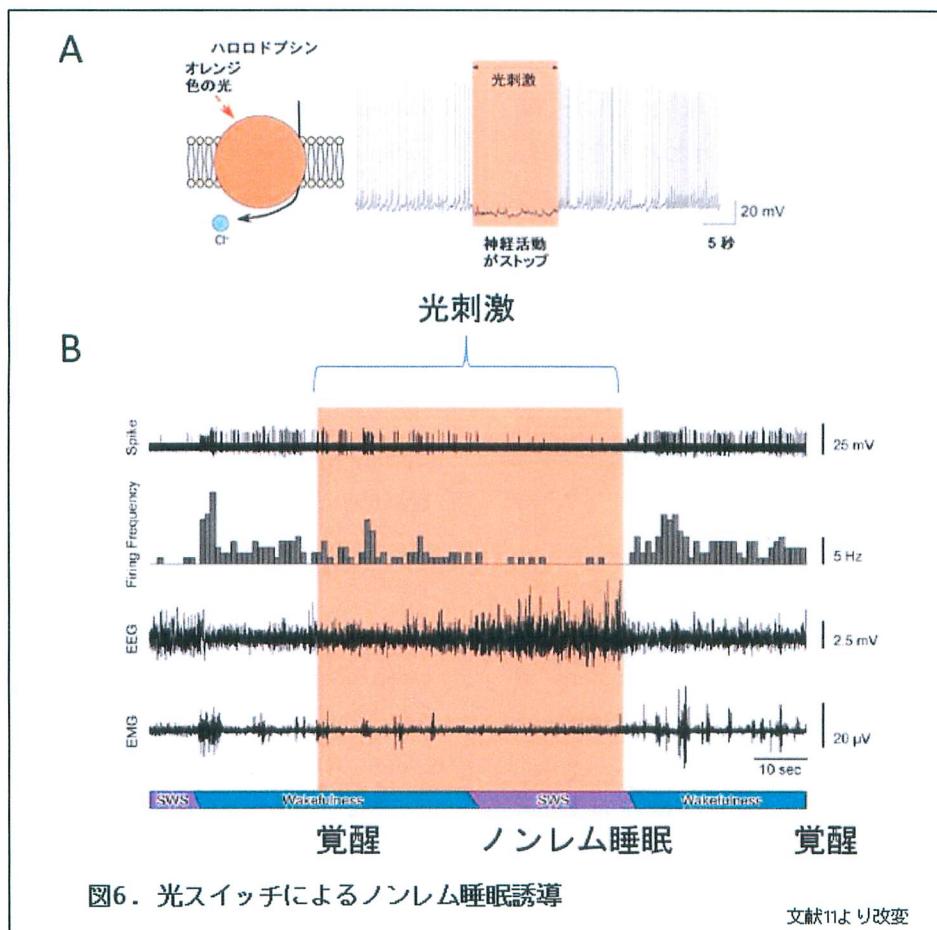
ヒト、マウス、ショウジョウバエにおいて同じ遺伝子の変異が同様な影響をもたらすことが明らかとなった、われわれの日米共同研究を紹介します。

ヒトに関しては、294 名の日本人成人男性を対象としたゲノム疫学研究をおこないました。その結果、Fabp7 とい

う遺伝子のミスセンス突然変異(DNA の変化によりアミノ酸が変わる変異)を持っている人は、睡眠がより断片化していました。すなわち、FABP7 蛋白の 61 番目のアミノ酸のミスセンス突然変異(FABP7-T61M)を持っている人は、持っていない人と比べて、活動量計により計測された 1 回の睡眠エピソードの平均の長さ(sleep bout duration)が短く、睡眠エピソードの頻度(Bout Frequency)が多く、睡眠がより断片化していました(図 7 A, B)(文献 12)。

この遺伝子を欠損させた KO マウスでも同様に、野生型に比べて睡眠が断片化していました(図 7 C, D)(文献 12)。さらに、脳内のアストロサイト特異的に、ヒトの野生型の Fabp7、あるいはヒトの変異型の FABP7-T61M を発現させたショウジョウバエの睡眠を比べると、やはり、FABP7-T61M のハエは睡眠が断片化していることがあきらかとなりました(図 7 E, F)(文献 12)。この結果は、アストロサイトの FABP7 が睡眠断片化にかかわっていることを示唆しています。

このように、ヒトの遺伝子の変化を実験動物で確認、解析するといったことが行われるようになってきています。



さいごに

睡眠障害のモデル動物実験系について概説しました。哺乳類、特にマウスを用いた実験が主に行われてきましたが、それ以外の動物種を用いた睡眠研究も行われるようになっています。マウス以外で遺伝子操作が可能な動物種として頻用されるものにショウジョウバエやゼブラフィッシュがあります。今回は触れませんでしたが、高次脳機能との関係についてはサルを用いた研究も有用と思われます。睡眠障害のメカニズム解明にもつながるため、実験動物を用いた睡眠研究は今後とも重要でしょう。

参考文献

1. 内村直尚 睡眠薬治療の入口と出口を考える. Clinician 2016;650:715–720.
2. Kayser MS, Biron D. Sleep and Development in Genetically Tractable Model Organisms. Genetics, 2016;203(1):21–33.
3. Villafuerte G, Miguel-Puga A, Rodríguez EM, et al. Sleep deprivation and oxidative stress in animal models: a systematic review. Oxid Med Cell Longev. 2015;2015: 234952.
4. Ramesh V, Kaushal N, Gozal D. Sleep fragmentation differentially modifies EEG delta power during slow wave sleep in socially isolated and paired mice. Sleep Science. 2009; 2(2):64–75.
5. Trammell RA, Verhulst S, Toth LA. Effects of sleep fragmentation on sleep and markers of inflammation in mice. Comp Med 2014;64:13–24.
6. Qaseem A, Dallas P, Owens DK, et al. Summaries for patients: diagnosis of obstructive sleep apnea in adults: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. Ann Intern Med. 2014 Aug 5;161(3):I–28. doi: 10.7326/P14–9025.
7. 井上雄一, 山城義広(編). 睡眠呼吸障害 Update2011. ライフ・サイエンス社 2011.
8. Dematteis M, Godin-Ribout D, Arnaud C, et al. Cardiovascular consequences of sleep-disordered breathing: contribution of animal models to understanding the human disease. ILAR J. 2009;50(3):262–81.
9. Tagaito Y, Polotsky VY, Campen MJ, et al. A model of sleep-disordered breathing in the C57BL/6J mouse. J Appl Physiol (1985). 2001 Dec;91(6):2758–66.
10. Jun JC, Shin MK, Devera R, et al. Intermittent hypoxia-induced glucose intolerance is abolished by α-adrenergic blockade or adrenal medullectomy. Am J Physiol Endocrinol Metab 2014;307:E1073–E1083.
11. Tsunematsu T, Kilduff TS, Boyden ES, et al. Acute optogenetic silencing of orexin/hypocretin neurons induces slow-wave sleep in mice. J Neurosci. 2011;31(29):10529–39.
12. Gerstner JR, Perron IJ, Riedy SM, et al. Normal sleep requires the astrocyte brain-type fatty acid binding protein FABP7. Science Advances. 2017;3: e1602663.