

オプトジェネティクスを用いた睡眠覚醒の制御

生理学研究所・細胞生理研究部門 常松友美

神経ペプチド、オレキシンを産生する神経（オレキシン神経）は、視床下部外側野に少数が散在しており、睡眠覚醒の調節に非常に重要な役割を担っている。睡眠覚醒は個体のみで生じる生理現象であるため、睡眠覚醒を調節している神経回路の動作原理を統合的に理解するためには、個体を用いた研究が必須である。

本研究では、近年進歩が著しい新技術である‘オプトジェネティクス’を用い、光によってオレキシン神経の活動を制御することで、オレキシン神経の睡眠覚醒調節における役割を解明することを目的とした。私たちは、ハロドプシン(Halo)もしくは、アーキドプシン3(Arch)をオレキシン神経特異的に発現する遺伝子改変マウス(*orexin/Halo, orexin/Arch*)の作成に成功した。Haloはクロライドポンプを形成しており、橙色光によって膜電位を過分極させて神経活動を抑制することが出来る分子であり、一方、Archはプロトンポンプを形成しており、黄緑色光刺激により Halo 同様に膜電位を過分極させることが可能な分子である。

Orexin/Halo マウスを用いて、睡眠覚醒を繰り返す意識下において、両側視床下部に刺入した光ファイバーを介し(図1)、任意のタイミングでオレキシン神経を橙色光照射により1分間抑制した。オレキシン神経抑制によって脳波は徐波を示し、筋電図が小さくなったことから徐波睡眠が誘導されたと考えられた(図2)。オレキシン神経活動と睡眠覚醒調節機構についてさらに詳しく解析するために、オレキシン神経の投射先であり、睡眠覚醒の調節に関与していることが明らかとなっている縫線核セロトニン神経の活動を、*in vivo*細胞外記録法によって確認した。オレキシン神経活動を橙色光で抑制すると、徐々にセロトニン神経の自発発火が抑制されるという結果が得られた(図2)。これらの結果から、オレキシン神経活動を光によって急性抑制すると、セロトニン神経活動を低下させ、結果として徐波睡眠を誘導しうることが明らかとなった。

また、ArchはHaloと同様神経活動を抑制することが可能であるが、Haloと比較して、光感度が高いだけでなく、繰り返し抑制や、長時間抑制などすべての点においてHaloよりも優れていた。そのため今後はArchを用いた解析を中心に進めていく予定としている。本研究から、HaloおよびArchといった光活性化タンパク質が特定神経の活動を抑制するツールとして非常に有用であること、さらに個体における特定神経活動を制御することによって特定の行動を制御出来ることを示しており、今後オレキシン神経以外にもオプトジェネティクスを適用していくことで、個体での睡眠覚醒調節回路の動作原理への理解が大きく深まっていくことが期待される。

図1 *in vivo*細胞外記録法

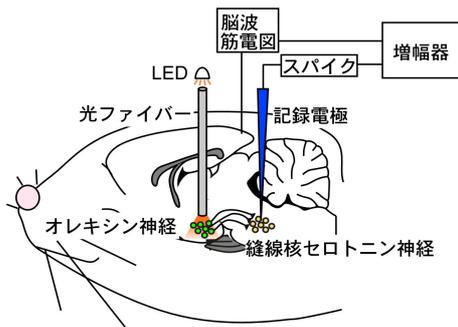


図2 光刺激により惹起された徐波睡眠と縫線核セロトニン神経活動の抑制

