



科学技術振興機構（JST）  
Tel：03-5214-8404（広報課）

東 京 大 学  
Tel：03-5841-3304  
（医学部総務チーム）

理 化 学 研 究 所  
Tel：050-3495-0247  
（広報室報道担当）

## 徹夜後に長く深く眠る仕組みを解明 ～大脳皮質の抑制性神経が眠気の強弱に応じて睡眠を誘導する～

### ポイント

- 覚醒履歴に応じて睡眠の量が増え、質が高まる仕組みは十分に分かっていませんでした。
- 大脳皮質の抑制性神経が長時間の覚醒後の深く長い睡眠を誘導することが明らかとなりました。
- 眠気を定量的に記録し、適切に管理する手法の開発へとつながることが期待されます。

JST 戦略的創造研究推進事業において、東京大学 大学院医学系研究科 機能生物学専攻 システムズ薬理学分野の上田 泰己 教授（理化学研究所 生命機能科学研究センター 合成生物学研究チーム チームリーダー兼任）、昆 一弘 研究員（研究当時、現 Johns Hopkins University 博士研究員）らは、長時間の覚醒後に生じる長く深い睡眠（リバウンド睡眠）に大脳皮質の主要な抑制性神経であるパルブアルブミン（PV）発現神経の活動の適切な調節が重要であることを解明しました。

徹夜などで睡眠不足に陥ると強い眠気を感じ、その後の睡眠は従来よりも長く深くなる経験を誰しもが一度はしたことがあるでしょう。これは脳が覚醒していた履歴を記録し、その履歴に応じて必要な睡眠を補償する仕組み（睡眠恒常性）があることを示しています。しかし、脳内で睡眠恒常性がどのように実現されているのかはよく分かっていませんでした。

本研究グループは、マウスを実験的に睡眠不足にすることで、眠気が高まると大脳皮質のPV発現神経が活性化され、リバウンド睡眠が起きることを明らかにしました。さらに、たんぱく質リン酸化酵素であるCaMKII（カルシウム/カルモジュリン依存性キナーゼII）の活性化が、眠気に応じてPV発現神経を活性化させることでリバウンド睡眠を引き起こすことを解明しました。

本研究により、睡眠科学の大きな謎の1つである睡眠恒常性の分子・神経メカニズムの一端が明らかになりました。この結果から、眠気を定量的に把握しながら適切にコントロールする手法の開発へとつながることが期待されます。

本研究成果は、2024年7月18日（英国時間）発行の英国科学誌「Nature Communications」のオンライン版で公開されました。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究（ERATO）

研究領域：「上田生体時間プロジェクト」（JPMJER2001）

研究総括：上田 泰己（東京大学 大学院医学系研究科 教授／理化学研究所 生命機能科学研究センター チームリーダー）

研究期間：令和2年10月～令和8年3月

睡眠・覚醒リズムをモデル系として「ヒトの理解に資するシステム生物学」を展開し、分子から社会に生きるヒト個体までを通貫する「生体時間」情報の理解を目指します。

## ＜研究の背景と経緯＞

睡眠は種を超えて保存された生存に必須な行動であり、生涯を通じて継続されます。ヒトの場合は基本的に朝に目覚め、夜に眠るといったサイクルを繰り返しますが、そのサイクルから逸脱して徹夜をすることもできます。しかし、徹夜をした後は、昼間であっても眠気に勝てずに眠ってしまう、朝には起きられず昼まで寝てしまうといった経験をした人も多いと思います。この現象は「リバウンド睡眠」と呼ばれ、脳が覚醒時の活動履歴を記録し、それを直後の睡眠に反映させて一定量の睡眠を確保しようとする「睡眠恒常性」が存在することを示唆しています。しかし、どのように覚醒履歴を脳内で記録し、直後の睡眠に反映しているのかはよく分かっていませんでした。

PV発現神経は、大脳皮質内で最も豊富な抑制性神経（注1）であり、大脳皮質の神経回路の抑制に寄与しています。PV発現神経の神経活動は覚醒時に比べて睡眠時に高く、薬理遺伝学（注2）的手法によるPV発現神経の活性化は睡眠を誘導することから、PV発現神経の睡眠制御への関与が示唆されていました。しかし、PV発現神経が睡眠恒常性の制御に寄与するのか、寄与するとしたらどのような仕組みなのかは解明されていませんでした。

## ＜研究の内容＞

睡眠は生涯を通じて継続されますが、そのパターンは発達に応じて変化します。離乳後の幼若期から成体になるまでの発達期のマウスにおいて連続的に睡眠を測定すると、リバウンド睡眠は幼若期の段階ではほとんど見られず、発達段階が進むと顕著になることが分かりました。また、本研究グループが以前に開発した全脳解析手法（注3）を用いて発達期のマウスのPV発現神経を解析すると、幼若期から成体にかけて大脳皮質のPV発現神経の数が変化することが明らかになりました。

また、PV発現神経の活動と睡眠恒常性の相関関係を調べると、大脳皮質のPV発現神経が長時間の覚醒後に活性化する傾向があることが分かりました。薬剤投与によって過剰に覚醒を引き起こした場合にも同様の結果が得られたことから、覚醒履歴に対応してPV発現神経が活性化されると示唆されました。

次に、PV発現神経の活動と睡眠恒常性の因果関係を調べるために、薬理遺伝学的な神経活動操作を大脳皮質のPV発現神経特異的に行いました。その結果、十分な睡眠をとっているにもかかわらず、PV発現神経の活性化がリバウンド睡眠に類似した状態を引き起こすことが分かりました。逆に長時間覚醒させ続けて睡眠不足にしたマウスでリバウンド睡眠が現れる前に神経活動を抑制すると、リバウンド睡眠が現れず、定常時と同様の睡眠パターンを示しました（図1）。これらから、リバウンド睡眠には覚醒履歴に対応したPV

発現神経の活動亢進が必要であると示唆されました。

続いて本研究グループは、覚醒履歴に応答して大脳皮質のPV発現神経の活動変化を引き起こす分子メカニズムの解明を試みました。脳内の主要なたんぱく質リン酸化酵素であるCaMK II（注4）は、覚醒が続くほど大脳皮質全体におけるCaMK IIの自己リン酸化（注5）が促進することが知られており、その遺伝子を欠損させたマウスは短眠となるため、CaMK IIは睡眠制御に重要なたんぱく質として近年認識されています。しかし、PV発現神経におけるCaMK IIの役割はほとんど解明されていませんでした。一細胞遺伝子発現データ（注6）を使用してPV発現神経のCaMK IIの発現を調べると、サブタイプの1つであるCaMK II  $\alpha$  の発現レベルがリバウンド睡眠の変化と一致して幼若期から発達期にかけて2倍以上増加することが分かりました。そこで、PV発現神経のCaMK IIの活性と睡眠恒常性との因果関係を調べるために、CaMK II阻害ペプチド（注7）を用いて大脳皮質のPV発現神経特異的にCaMK IIの活性を阻害しました。その結果、CaMK IIの活性を阻害したマウスではリバウンド睡眠がほとんど見られず、覚醒履歴に応答したPV発現神経の活動亢進が損なわれている可能性が示唆されました（図2左）。逆に、CaMK II恒常活性変異体（注8）を発現させてPV発現神経特異的にCaMK IIを活性化すると、長く安定したリバウンド睡眠に類似した状態を引き起こすことが明らかになりました（図2右）。この状態は、CaMK IIのリン酸化活性を不活化した場合には誘導されませんでした。以上のことから、CaMK IIのリン酸化活性が、リバウンド睡眠様状態の誘導に必要であると示唆されました。

これらの結果は、CaMK II活性化がPV発現神経の活動を亢進させてリバウンド睡眠を引き起こすという仮説を支持しています。実際、PV発現神経にCaMK II恒常活性変異体を発現させてCaMK IIを活性化すると、PV発現神経の活動が選択的に上昇することが明らかになりました。一方で、興奮性神経（注1）特異的にCaMK IIを活性化させても興奮性神経の活動はほぼ影響を受けず、PV発現神経に特異的な活動調節機構の存在が示唆されました。

最後に、PV発現神経のCaMK IIが覚醒履歴に対応して活性化するか評価しました。CaMK IIのリン酸化活性の指標として自己リン酸化を質量分析により定量すると、長時間の覚醒により自己リン酸化レベルが顕著に増加しており、覚醒履歴に応答したPV発現神経のCaMK II活性化が示されました。以上のことから、PV発現神経のCaMK IIが覚醒履歴に対応して活性化し、CaMK II依存的なPV発現神経の活動が亢進されることが正常なリバウンド睡眠の誘導に必須であるという新しい睡眠恒常性制御機構が示されました（図3）。

### <今後の展開>

本研究では、分子・細胞・行動をつなぐ横断的な研究により、マウスの睡眠恒常性制御におけるPV発現神経とそのCaMK II活性の役割を初めて示しました。CaMK II発現が少ない幼若期は、覚醒履歴に応じたPV発現神経の活動亢進が不十分である故に、睡眠恒常性が未熟であると考えられ、今後検証する予定です。

睡眠不足による事故リスクの増加や身体・メンタルヘルスへの悪影響はよく知られており、不十分な睡眠に起因する問題は現代社会において喫緊の課題といえます。今回の成果はPV発現神経におけるCaMK IIのリン酸化が眠気に対応する可能性を示唆するものですが、将来的にこのリン酸化活性を外部から眠気として定量的にモニターしつつ、適切に

コントロールする手法の開発が進めば、睡眠という観点から心身共により健康な社会を達成する一助となることが期待されます。

<参考図>

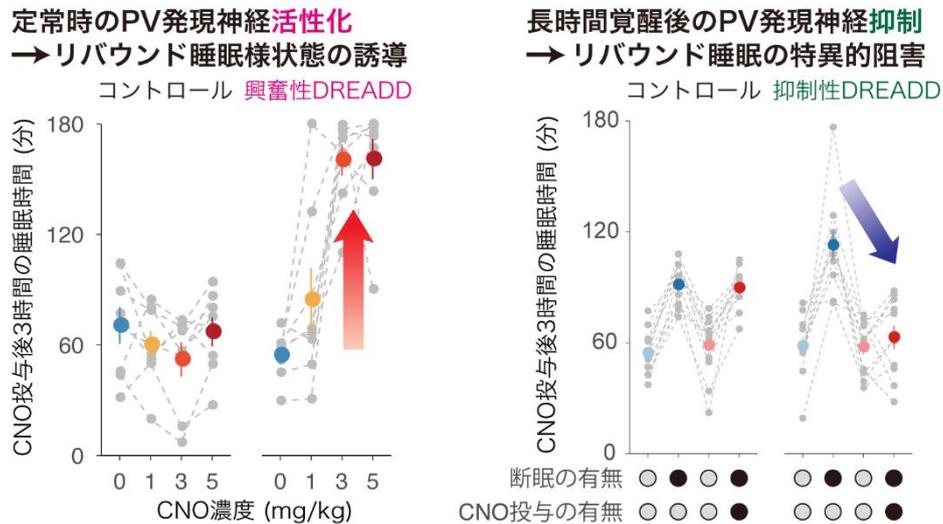


図1 PV発現神経の活動亢進による睡眠恒常性の制御

PV発現神経に興奮性DREADDを発現させ、CNO投与により薬理遺伝学的に活性化するとリバウンド睡眠様状態が誘導された。一方で、断眠による長時間覚醒後に抑制性DREADDを用いてPV発現神経を特異的に抑制すると、リバウンド睡眠が阻害されて定常時の睡眠時間と同等のレベルになった。DREADD：デザイナードラッグによってのみ活性化されるデザイナー受容体、CNO：クロザピン-N-オキシド

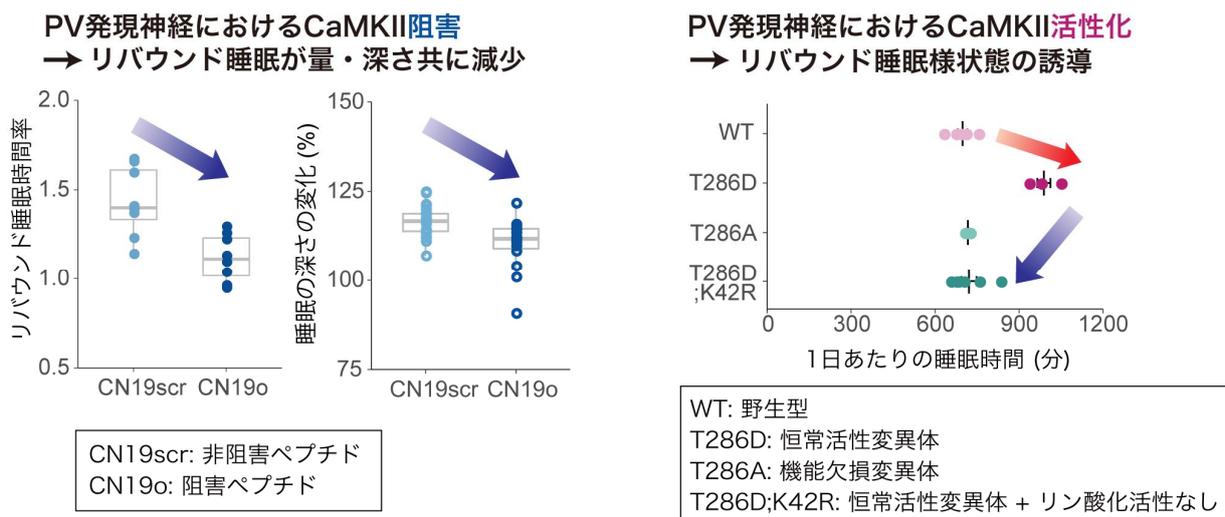


図2 PV発現神経のCaMKII活性化による睡眠恒常性の制御

PV発現神経特異的にCaMKII阻害ペプチドであるCN19oを発現させたマウスでは、リバウンド睡眠で見られる睡眠時間、睡眠深度のリバウンドが減少した。一方で、PV発現神経特異的にCaMKII恒常活性変異体を発現させるとリバウンド睡眠様状態が誘導され、その誘導効果はCaMKIIのリン酸化活性依存的であった。

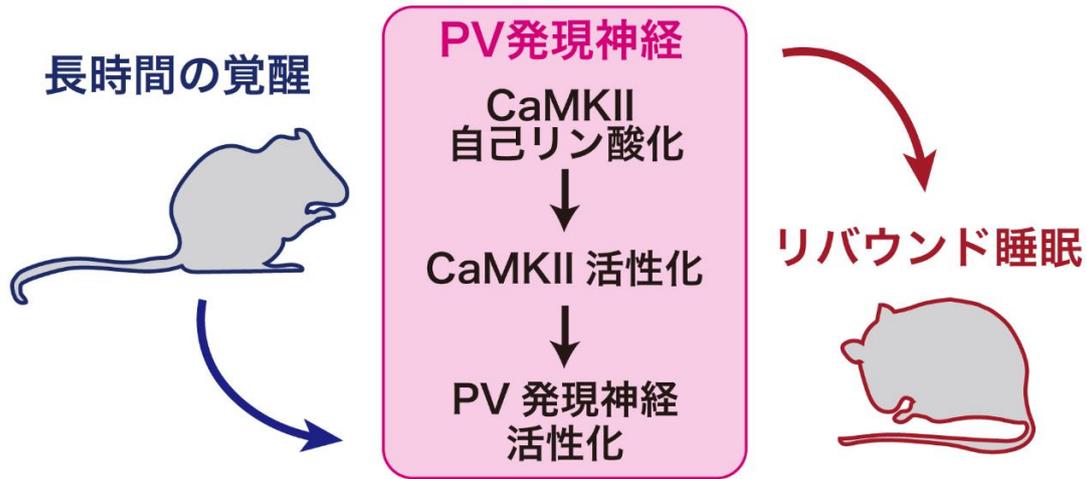


図3 本研究で提案する睡眠恒常性制御機構のモデル

長時間の覚醒がPV発現神経におけるCaMKIIの自己リン酸化を増加させ、CaMKIIを活性化する。活性化されたCaMKIIはPV発現神経を活性化し、リバウンド睡眠が引き起こされる。

#### <用語解説>

##### (注1) 抑制性神経・興奮性神経

抑制性神経と興奮性神経は、神経系において異なる機能を持つ2種類の主要な神経細胞である。興奮性神経は活動電位の発生確率を高める神経伝達物質（主にグルタミン酸）を放出して標的細胞の活動を促進する一方で、抑制性神経は活動電位の発生確率を下げる神経伝達物質（主にGABA）を放出して標的細胞の活動を抑制する。

##### (注2) 薬理遺伝学

特定の細胞群の活動を制御するために設計された手法で、化学遺伝学とも呼ばれる。遺伝子工学的手法を用いて特定の細胞に人工的な受容体（DREADDs）を発現させ、特定の合成化合物（例えばCNO）によって活性化させる。DREADDsは通常の神経伝達物質には反応しないため、薬物投与によって目的の細胞群の活動を選択的かつ可逆的に操作できる。

##### (注3) 全脳解析手法

組織透明化技術を用いて透明にした脳の3次元画像を光シート顕微鏡により取得し、神経回路の詳細な構造や細胞の分布を脳全体にわたって解析する手法。本研究グループはCUBICと呼ばれる全脳解析手法を開発しており、本研究でもそれを使用した。

##### (注4) カルシウム／カルモジュリン依存性キナーゼII（CaMKII）

神経細胞に多く存在し、カルシウム／カルモジュリンが結合することで活性化する。 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ サブタイプが知られており、これらのサブユニットが12量体を形成する。キナーゼとして他のたんぱく質をリン酸化する他、さまざまなたんぱく質と複合体を形成し

て神経細胞の働きを制御している。

(注5) 自己リン酸化

たんぱく質リン酸化酵素は他のたんぱく質をリン酸化するが、自身をリン酸化することもある。これを「自己リン酸化」と呼ぶ。CaMK IIは特定部位のアミノ酸の自己リン酸化により活性化状態となることが知られている。

(注6) 一細胞遺伝子発現データ

個々の細胞ごとに独立した遺伝子発現データ。従来の遺伝子発現データは、解析サンプル全体の平均データであったが、遺伝子発現量は個々の細胞で異なり、その違いが機能解析に重要であることが近年の研究から明らかになってきている。

(注7) 阻害ペプチド

たんぱく質の働きを阻害するために用いられる十数個のアミノ酸が連なったもの。アミノ酸残基間の相互作用に基づいて緻密な設計が可能であるため、標的となるたんぱく質に特異性が高いものが得られやすい。

(注8) 恒常活性変異体

たんぱく質の機能を常に活性化状態に保つように設計された遺伝子変異体。通常は一時的または条件依存的にのみ活性化されるたんぱく質の機能を継続的に活性化状態に保つことができる。

<論文タイトル>

“Cortical parvalbumin neurons are responsible for homeostatic sleep rebound through CaMKII activation”

(大脳皮質のパルブアルブミン発現神経がCaMK II活性化を通してリバウンド睡眠を引き起こす)

DOI : 10.1038/s41467-024-50168-5

<お問い合わせ先>

<研究に関すること>

上田 泰己 (ウエダ ヒロキ)

東京大学 大学院医学系研究科 機能生物学専攻 システムズ薬理学分野 教授

〒113-0033 東京都文京区 7-3-1 東京大学医学部教育研究棟 8階南

Tel : 03-5841-3415

E-mail : uedah-tky@umin.ac.jp

<JST事業に関すること>

今林 文枝 (イマバヤシ フミエ)

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部 ICT/ライフィノベーシヨングループ

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 K's 五番町

Tel : 03-3512-3528 Fax : 03-3222-2068

E-mail : eratowww@jst.go.jp

<報道担当>

科学技術振興機構 広報課

〒102-8666 東京都千代田区四番町 5番地 3

Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho@jst.go.jp

東京大学 大学院医学系研究科 総務チーム

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel : 03-5841-3304 Fax : 03-5841-8585

E-mail : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

Tel : 050-3495-0247

E-mail : ex-press@ml.riken.jp