

2023年11月7日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学
国立長寿医療研究センター
至学館大学

脳内の細胞活動変化を網羅的に解析する方法を提案 一時的な睡眠不足による神経活動変化を検証

【発表のポイント】

- 様々な身体の不具合につながる一時的な睡眠不足^(注1)で起こる脳神経活動の変化を網羅的に解析しました。
- 一時的な睡眠不足によりもたらされる脳領域間の結合性^(注2)の変化を世界で初めて定量的に示しました。
- 遺伝子改変モデルマウスと半自動脳アトラスレジストレーションツール^(注3)を組み合わせることで、心理的な偏りのない網羅的な細胞活動変化の解析を可能にする方法を提案しました。

【概要】

睡眠不足は、私たちの日常生活に悪影響を及ぼしうる大きな社会問題となっています。加齢医学研究所統合生理学研究分野の佐藤亜希子准教授（兼務：国立長寿医療研究センター・副部長）、漆畑拓弥助教、国立長寿医療研究センターの後藤三緒研究補助員、壁谷慶子研究補助員、辻将吾研究員らは、マウスを用いて、脳内の細胞活動変化を網羅的に解析する新たな方法を提案しました。そしてこの方法を用いることで、一時的な睡眠不足による脳内の神経活動変化と領域間の結合性変化を定量的に検出できることを示しました。

本研究は至学館大学栄養科学科の清塚麻衣学部生、丸山葉穂学部生、栄養科学科/健康科学研究所の多田敬典教授との共同研究により実施されました。

本研究成果は、10月19日に国際学術誌 Frontiers in Neuroscience に発表されました。

【詳細な説明】

研究の背景

睡眠不足は様々な健康障害につながる事が知られています。例えば、一次的な睡眠不足により情動や認知機能が低下することや、睡眠不足が認知症や神経変性疾患のリスクになる可能性が報告されています。そのため、睡眠不足が脳の機能にどのように影響するのかを解明することから、私たちの生活の質の向上に繋がることが期待されます。しかしながら、これまでは特定の脳領域に限った研究が多く、睡眠不足による脳機能への作用については未解明な部分が多く残っています。そこで私たちは、活性化された神経を標識して脳全体を解析すれば、睡眠不足による神経活動変化を網羅的視点から解き明かすことができると考えました。

今回の取り組み

本研究では、TRAP2-ZsGreen マウス^(注4) と半自動脳アトラスレジストレーションツールを新たに組み合わせることで神経活動を網羅的に解析する方法を検証しました(図1)。具体的には、まず、TRAP2-ZsGreen マウスに6時間の睡眠制限(6h-SD)を行い、一時的な睡眠不足状態を誘導しました。6h-SDは人為的SD^(注5)と機械的SD^(注6)の二種類の方法を比較することで、異なるSD法に共通する神経活動変化を探索しました。次に、6h-SD中に4-OHT^(注7)を投与することにより、SD中に活性化した神経を蛍光タンパクZsGreenにより標識しました。そして、固定した脳検体から脳切片を作製し、画像データを取得しました(図1 Step1)。さらに得られた画像データから活性化神経のxy座標(図1 Step2-1)と半自動的に脳領域を決定し(図1 Step2-2)、これらの情報から各脳領域の活性化神経数を計測し評価しました(図1 Step3)。

14脳領域に区分した解析では、いずれのSD法も活性化神経が嗅覚野で統計的有意に増加、延髄で減少することが示されました(図2)。また348脳領域に細区分した解析では、いずれのSD法も、視床下部の視床下部外側野、中脳の二丘傍核と腹側被蓋野、延髄の巨大細胞性網様核において有意な増加、一方、皮質サブプレートの扁桃体基底外側核前部、線条体の側坐核と中隔海馬核、視床の視床網様核、視床下部の周室核視索前部と腹内側視索前核、中脳の吻側線状縫線核、延髄の顔面運動核と前庭核で有意な低下が示されました。今回の解析から、検出されたほとんどの脳領域は睡眠/覚醒調節回路として既に報告されている一方、新規の脳領域も見出されました。さらに、6h-SDによる領域間の統計的に有意な結合性変化も示されました。特に大脳新皮質を含む結合性変化が認められたことから、認知機能や情動能への影響が示唆されました。本研究で得られた解析結果から、睡眠不足による脳機能への作用メカニズムのさらなる解明に繋がることが期待されました。

今後の展開

本研究で提案した解析法は、脳を丸ごと使わずとも実施でき正当な結果を得られることが最大の利点となります。そのため、実験動物の個体数に制限がある場合にも脳の網羅的解析を実施しやすく、動物愛護の観点からも有用な実験手法として様々な病態モデル解析への応用が期待されます。

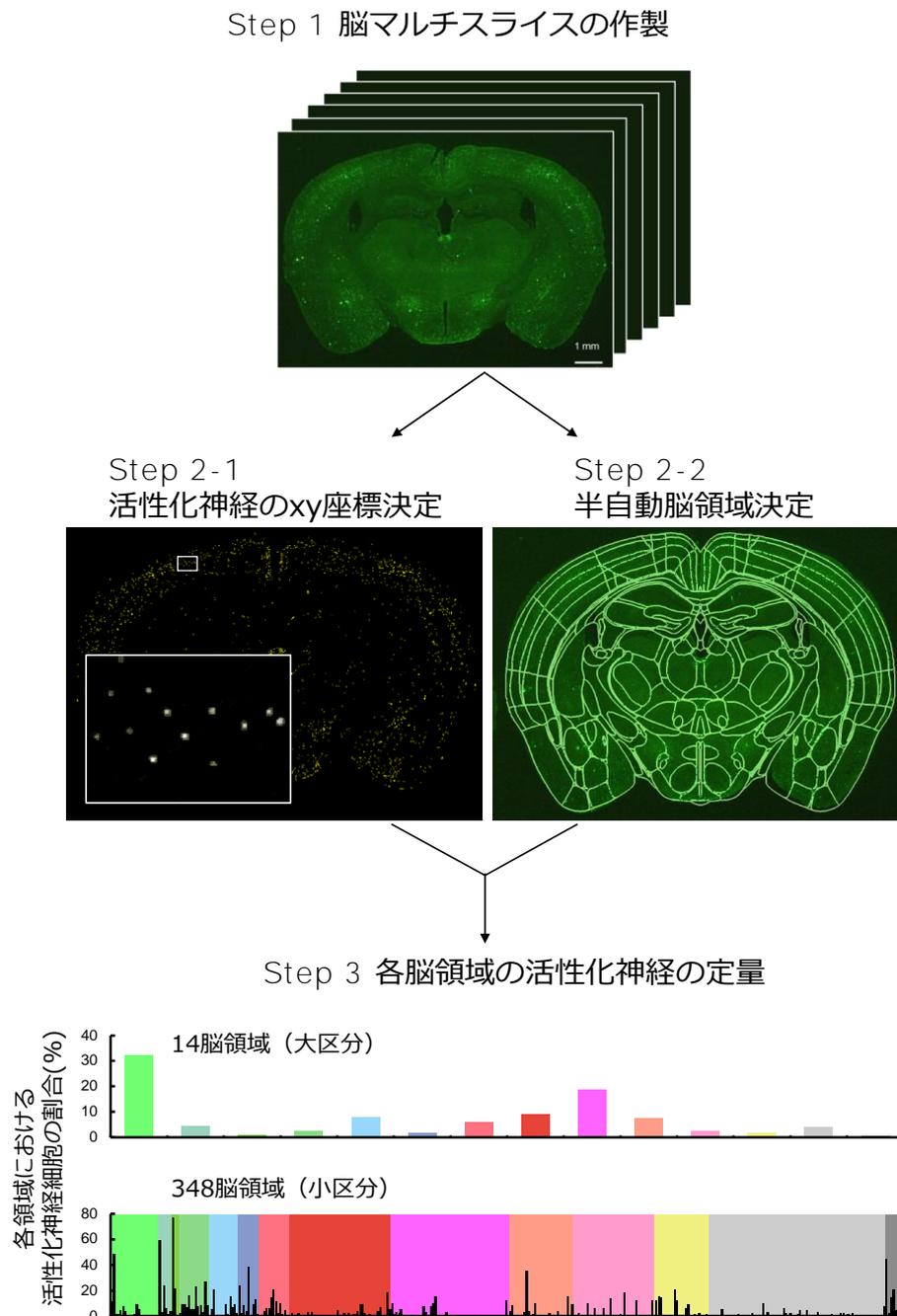


図 1. 脳内の活動化神経を網羅的に解析する方法の流れ。

SD 中に活性化した神経を標識し、脳マルチスライス画像を取得 (Step1)。活性化神経の xy 座標 (Step2-1) と脳領域 (Step 2-2) の決定。各脳領域における活性化神経数の計測 (Step3)。

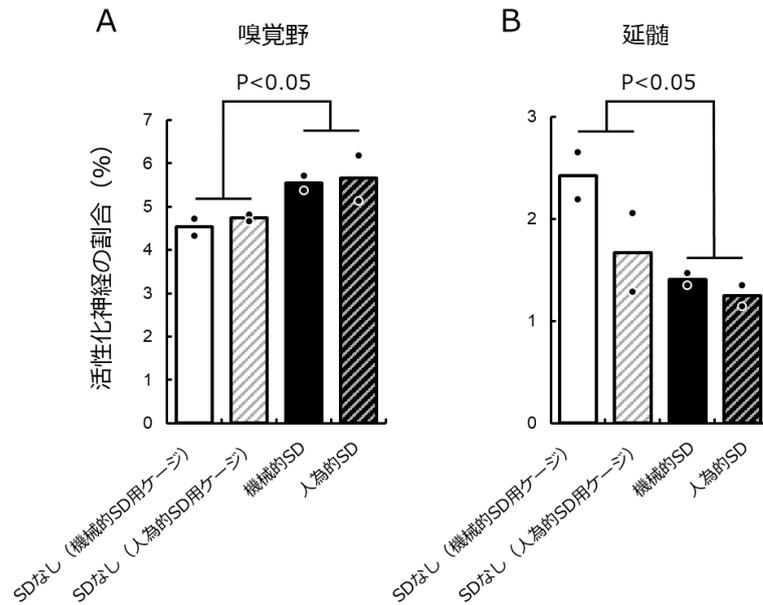


図 2. SD による活性化神経の割合変化。

SD は嗅覚野の活性化神経を増加 (A)、延髄の活性化神経を減少させる (B)。

【謝辞】

本研究は、主に JSPS 科研費 (JP22K17848, JP23H03848, JP23K18414, JP23K14671)、AMED (JP20gm5010001s0604)、長寿医療研究開発費 (22-3) の支援を受けて実施されました。

【用語説明】

注1. 睡眠不足：睡眠絶対量が不足した状態。

注2. 脳領域間の結合性：神経活動の同期度合いから脳領域間の相互作用の強さを規定する指標。

注3. 半自動脳アトラスレジストレーションツール：既に領域が定義された脳地図 (脳アトラス) 画像と脳スライス画像を半自動的にアライメントすることで、脳スライス画像の全ての脳領域を決定させ、定量評価を可能とするツール。

注4. TRAP2-ZsGreen マウス：Targeted recombination in active populations 2 マウス。神経活動増加に伴い発現が増加する cFos プロモーターを介し、4-ヒドロキシタモキシフェンを投与すると、薬物依存的に一次的に Cre リコンビナーゼが活性化され、活性化神経が蛍光タンパク質により標識さ

れる。

注5. 人為的 SD 手法：マウスの入眠を目視で判断し、棒などによる弱い刺激で睡眠を阻害する手法。

注6. 機械的 SD 手法：機械式チャンバーを用いた非人為的な手法。

注7. 4-ヒドロキシタモキシフェン：TRAP2-ZsGreen マウスにおいて活性化神経の標識を誘導する。

【論文情報】

タイトル：Evaluation of cellular activity in response to sleep deprivation by a comprehensive analysis of the whole mouse brain

著者：Takuya Urushihata^{1,2}, Mio Goto², Keiko Kabetani², Mai Kiyozuka^{2,3}, Shiho Maruyama^{2,3}, Shogo Tsuji², Hirobumi Tada^{2,3,4}, and Akiko Satoh^{1,2,*}

¹Department of Integrative Physiology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Sendai, Japan.

²Department of Integrative Physiology, National Center for Geriatrics and Gerontology, Obu, Japan.

³Department of Nutrition, Faculty of Wellness, Shigakkan University, Obu, Japan.

⁴Department of Physiology, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama, Japan.

*責任著者

掲載誌：Frontiers in Neuroscience

DOI：10.3389/fnins.2023.1252689

URL：<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2023.1252689/full>

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学加齢医学研究所 統合生理学研究分野

准教授 佐藤 亜希子

TEL: 022-717-8544

E-mail: akiko.satoh.b7@tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学加齢医学研究所

広報情報室

TEL: 022-717-8443

E-mail: ida-pr-office@grp.tohoku.ac.jp