

文部科学省私立大学戦略的研究基盤
形成支援事業シンポジウム 2015

サーカディアンメディスンの 基礎臨床連携研究拠点

平成 27 年 6 月 8 日

主催 自治医科大学

特別講演 1

睡眠覚醒制御機構とオレキシンの役割

金沢大学 医薬保健研究域医学系分子神経科学 統合生理学分野
櫻井 武

オレキシン A と B はオーファン GPCR を用いた新規生理活性物質の探索の過程で同定された新規神経ペプチドであり、二つの受容体、オレキシン 1 受容体 (OX1R) およびオレキシン 2 受容体 (OX2R) を介してその作用を発揮する。オレキシンは「摂食中枢」とされる視床下部外側野およびその近傍に局在するニューロン群によって特異的に産生される。オレキシン産生ニューロンの軸索は、著しく分枝しつつきわめて広範な領域に投射する。特に強く投射する部位には、脳幹の睡眠・覚醒制御に関わるモノアミン作動性神経の起始核である青斑核 LC、背側縫線核 DR や結節乳頭体 TMN、橋被蓋に局在するコリン作動性神経の起始核、外背側被蓋核 LDT や脚橋被蓋核 PPT などに見られる。こオレキシンは視床下部に集約されたさまざまな情報をもとに脳幹に存在するこれらのモノアミン・コリン作動性神経を制御することによって睡眠・覚醒に影響をおよぼしていると考えられる。二つの受容体発現は一部オーバーラップしつつ、相補的な関係にある。たとえば LC のノルアドレナリン作動性ニューロンでは OX1R のみが強く発現しているのに対し、TMN のヒスタミン作動性ニューロンでは OX2R のみが発現している。また、LDT/PPT のコリン作動性ニューロンには OX1R のみが発現している。DR のセロトニン作動性ニューロンには両方の受容体が発現している。オレキシン産生ニューロンは、ラットおよびマウスにおいてオレキシン産生ニューロンは、扁桃核、分界条床核などの大脳辺縁系や側坐核、視索前野 (POA) の GABA 作動性神経、縫線核のセロトニン作動性神経からの入力をうけていることが明らかにされている。このような入力系により、オレキシン産生ニューロンは覚醒が必要なときに興奮し、脳幹のモノアミン神経やコリン作動性ニューロンの適切な活動を支えていると考えられる。情動が発動しているときには注意力が上がり、覚醒レベルも上昇するが、このときに大脳辺縁系や側坐核からオレキシン産生ニューロンへの入力がかかっている可能性が高い。このように、オレキシン産生ニューロンは、大脳辺縁系からの入力をうけて、情動に伴う自律神経系の制御および覚醒レベルの上昇に関わっていると考えられる。一方で、大脳辺縁系とオレキシニューロンとの関連は、不安がオレキシニューロンを介して覚醒を高めることが、不眠の背景にある過覚醒のメカニズムに関わっている可能性を示唆している。

[所属機関名・講座名・氏名]

金沢大学医薬保健研究域医学系・分子神経科学・統合生理学分野

櫻井 武

[略 歴]

1993年4月日本学術振興会特別研究員

1993年8月筑波大学基礎医学系講師

1995年7月テキサス大学 HHMI 研究員

1997年9月筑波大学基礎医学系講師

1999年12月筑波大学基礎医学系・助教授

2004年4月筑波大学大学院人間総合科学研究科・助教授

2007年4月筑波大学大学院人間総合科学研究科・准教授

2007年11月金沢大学大学院医学系研究科 分子神経科学・統合生理学 教授

2008年4月金沢大学医薬保健研究域医学系・脳医科学専攻・分子神経科学・統合生理学分野教授

2012年4月金沢大学医薬保健学総合研究科・分子神経科学・統合生理学分野教授

2014年4月金沢大学脳肝インターフェースメディシン研究センター長（兼任）

[研究業績]

(英文原著論文でサーカディアン研究に関するものを、最大5本までご記載ください。)

1. Mieda M, Ono D, Hasegawa E, Okamoto H, Honma K, Honma S, Sakurai T. Cellular Clocks in AVP Neurons of the SCN Are Critical for Interneuronal Coupling Regulating Circadian Behavior Rhythm. *Neuron* 85(5):1103-1116, 2015
2. Sakurai T, Nagata R, Yamanaka A, Kawamura H, Tsujino N, Muraki Y, Kageyama H, Kunita S, Takahashi S, Goto K, Koyama Y, Shioda S, Yanagisawa M. Input of Orexin/Hypocretin Neurons Revealed by a Genetically Encoded Tracer in Mice. *Neuron* 46(2):297-308, 2005
3. Yamanaka A, Beuckmann CT, Willie JT, Hara J, Tsujino N, Mieda M, Tominaga M, Yagami K, Sugiyama F, Goto K, Yanagisawa M, and Sakurai T. Hypothalamic Orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice. *Neuron* 38:701-713, 2003
4. Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Sugiyama F, Yanagi K, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Genetic Ablation of Orexin Neurons in Mice Results in Narcolepsy, Hypophagia and Obesity. *Neuron* 30:345-354, 2001
5. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92:573-585, 1998

特別講演 2

生体リズム異常と高血圧

京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学講座システムバイオロジー分野
独立行政法人科学技術振興機構/CREST

岡村 均

血圧と生体リズムの関係は深い。正常者においては、血圧には日内変動があり、活動時である昼間は高く、睡眠中は低い。これは、活動を支える循環機構として、合目的的なものである。多くの臨床疫学的研究によれば、高血圧の罹患率が昼夜交代勤務者において高いとされる。しかしながら、実際に体内時計と高血圧を結びつける分子機序については従来、全く不明であった。我々は生体リズムの消失した遺伝子改変マウス (*Cry-null* マウス) を用いてリズム異常に関連する病態を検索した。その結果、*Cry-null* マウスでは、副腎球状層で新しいタイプのステロイド合成酵素 *Hsd3b6* の異常が起こり、アルドステロン分泌が過剰となり、食塩感受性的高血圧を示すことを見出した。この新型酵素は、ヒトの副腎球状層でも特異的に存在しており (ヒト *HSD3B1*)、ヒトの高血圧の新しい病因としての可能性が注目される。病態との関連では、*Cry-null* マウスの副腎の球状層は両側性に過形成を示し、同様の所見を呈する特発性アルドステロン症 (Idiopathic hyperaldosteronism: IHA) における *HSD3B1* の酵素の動態が注目される。この *Hsd3b6/HSD3B1* は、時計遺伝子の転写制御系により制御される *clock controlled gene* (ccg) としてだけでなく、アンギオテンシン II の作用も受けるので、この酵素は、時計を越えた新しいアルドステロンの産生を調節する酵素としての解明が待たれる。

[所属機関名・講座名・氏名]

京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学講座システムバイオロジー分野

岡村 均

[略 歴]

1979年3月京都府立医科大学医学部卒業

1979年5月国立岡山病院小児医療センター

1981年4月京都府立医科大学医学部第二解剖学教室助手

1987年同講師、平成2年同助教授

1987年6月フランス国立医学研究所 (INSERM, Lyon)、フランス国立科学研究所 (CNRS, Gif-sur-Yvette/Paris) へ留学

1995年6月神戸大学医学部教授 (解剖学第二講座)

2000年4月神戸大学大学院医学系研究科教授 (脳科学講座分子脳科学分野) (平成20年3月まで)

2007年5月京都大学大学院薬学研究科教授 (医薬創成情報科学講座システムバイオロジー分野)。現在に至る。

[研究業績]

1. Yamaguchi Y, Suzuki T, Mizoro Y, Kori H, Okada K, Chen Y, Fustin JM, Yamazaki F, Mizuguchi N, Zhang J, Dong X, Tsujimoto G, Okuno Y, Doi M, Okamura H: Mice genetically deficient in vasopressin V1a and V1b receptors are resistant to jet lag. **Science**, 342: 85-90, 2013.
2. Fustin JM, Doi M, Yamaguchi Y, Hayashi H, Nishimura S, Yoshida M, Isagawa T, Suimye-Morioka M, Kakeya H, Manabe I, Okamura H: RNA-methylation-dependent RNA processing controls the speed of the circadian clock. **Cell**, 155:793-806, 2013.
3. Negoro H, Kanmatsu A, Doi M, Suadicani SO, Matsuo M, Imanura M, Okinami T, Nishikawa N, Oura T, Matsuji S, Seo K, Tainaka M, Urabe S, Kiyokage E, Todo T, Okamura H*, Tabata H, Ogawa O* (*Corresponding authors): Involvement of urinary bladder Connexin43 and the circadian clock in coordination of diurnal micturition rhythm. **Nature Commun**, 3: 809, 2012.
4. Doi M, Ishida A, Miyake A, Sato M, Komatsu R, Yamazaki F, Kimura I, Tsuchiya S, Kori H, Seo K, Yamaguchi Y, Matsuo M, Fustin JM, Tanaka R, Santo Y, Yamada H, Takahashi Y, Araki M, Nakao K, Aizawa S, Kobayashi M, Obrietan K, Tsujimoto G, Okamura H: Circadian regulation of intracellular G-protein signalling mediates intercellular synchrony and rhythmicity in the suprachiasmatic nucleus. **Nature Commun**, 2: 327, 2011.
5. Doi M, Takahashi Y, Komatsu R, Yamazaki F, Yamada H, Haraguchi S, Emoto N, Okuno Y, Tsujimoto G, Kanematsu A, Ogawa O, Todo T, Tsutsui K, van der Horst GTJ, Okamura H: Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. **Nature Medicine**, 16: 67-74, 2010.

シンポジウム 第1部

新たな下垂体前葉機能調節機構—日内リズムと下垂体隆起部—

組織学部門

藤原研、Rita Maliza、屋代隆

下垂体前葉は6種類ホルモン (ACTH、GH、PRL、TSH、LH、FSH) を分泌し、成長、生殖、代謝、免疫を制御する重要な内分泌器官である。これらのホルモン分泌は視床下部や末梢臓器からのホルモンにより調節されている。視床下部による前葉ホルモンの分泌調節は、従来、下垂体門脈系による制御が唯一であると考えられてきた。一方、古くから下垂体前葉ホルモンの放出は日内リズムを示すことは知られてきたが、そのメカニズムは未だ十分には明らかになっていない。

前葉では非ホルモン産生性の濾胞星状細胞 (FS 細胞) が長い細胞突起で内分泌細胞を取り囲むように存在する。FS 細胞は下垂体隆起部から前葉内に広く分布する。Soji らはラットを用いた研究で、FS 細胞が隆起部から前葉に続く領域に高密度に存在していることを観察し、この部位を「前葉移行部」と名付けた。また、隆起部から前葉移行部にかけての FS 細胞が Gap 結合を介して機能的に連絡していることを報告している。さらに、視床下部の性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) ニューロンが隆起部の FS 細胞に投射していることが観察された。これらのことから下垂体門脈系を介した制御系に加え、隆起部—前葉移行部—前葉内での FS 細胞間ネットワークによる情報伝達系が LH/FSH の放出促進作用を持っている可能性が見いだされ、その作用機序が注目を集めている。

我々は共同研究者の Hattori らとともに、GnRH 刺激によりラット前葉移行部の FS 細胞で一過性の細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇がみられることを観察した。興味深いことに、この GnRH 応答性は午前採取した試料で観察されたが、午後採取した試料ではみられなかった。そこで、本研究では、FS 細胞における GnRH 応答性の分子メカニズムを解析を試みた。まず、午前と午後で前葉移行部を採取し、発現している遺伝子をマイクロアレイで比較した。その結果、午後で増加する 30 遺伝子、減少する 28 遺伝子を同定した。次に、FS 細胞で特異的に GFP を発現する S100b-GFP トランスジェニックラットを用いて FS 細胞で特異的に発現する遺伝子を解析した。単離した下垂体前葉細胞をセルソーターにより GFP 陽性細胞 (FS 細胞) と陰性細胞 (FS 細胞以外の細胞) に分取し、マイクロアレイで FS 細胞特異的に発現する遺伝子を明らかにすることができた。この発現遺伝子プロファイルを用いて、午前と午後で発現が変動する遺伝子群を 12 遺伝子に絞り込んだ。そして、これらの遺伝子が前葉移行部の FS 細胞で発現していることを *in situ hybridization* により明らかにした。今後、同定した遺伝子の機能を解析し、FS 細胞のネットワークが下垂体前葉ホルモン放出の日内変動の制御に関与していることを明らかにする必要がある。

(本研究は名古屋市立大学医学部曾爾彊グループとの共同研究である。)

オキシトシンと摂食・ストレス・社会行動：概日リズムの影響

神経脳生理学部門

尾仲達史、高柳友紀、吉田匡秀

エネルギー代謝関連疾患、あるいは精神疾患には、概日リズムの異常を伴うことが報告されている。しかしその関係には不明なところが多い。

齧歯動物を用いて、摂食、ストレス、社会行動を検討した。齧歯動物は夜行性であり、暗期に行動量と摂食量が多い。摂食の頻度と一回摂食量を検討したところ、暗期に摂食の頻度が多いのみならず、一回摂食量も増加していた。一回摂食量は視床下部オキシトシン産生ニューロンに依存している。そこで、視床下部オキシトシン産生ニューロンの活動を検討した。単位摂食量当たりの視床下部オキシトシン産生ニューロンの活性化と、末梢の満腹物質と考えられているコレシストキニンの投与によるオキシトシン放出が暗期に低下していた。従って、この暗期のオキシトシン産生細胞の活性化の低下が、暗期における摂食の一部を担っている可能性が考えられた。

一方、視床下部オキシトシン産生ニューロンは、摂食調節のほか、ストレス誘発性発熱、社会行動の調節を行っていることが知られている。実際、オキシトシン受容体を阻害すると、これらの調整に異常が観察された。

ミトコンドリア機能障害と代謝リズム

機能生化学部門

遠藤仁司、笠嶋克巳、黒岩憲二、山本 智、富永 薫

概日リズムは高脂肪食や加齢による代謝リズムの変動によりその振幅が大きく変動することや、適正な摂食リズムが高脂肪食によるメタボリックシンドロームを防止することが知られている。ミトコンドリアは糖質、脂質、タンパク質における代謝の中心であり、ミトコンドリア内膜に局在する電子伝達系は生体に必要なエネルギーの大部分を生成すると同時に、老化の共通機構である活性酸素の主要発生源にもなっている。肥満や加齢性疾患とミトコンドリア機能障害との関連性を示す多くの報告が現在までになされている。しかしながら、ミトコンドリア機能障害が代謝リズムにどのような影響を与えるのかはこれまであまり明らかにされていない。

Prohibitin 2 (PHB2)は進化的に高度に保存されたタンパク質でミトコンドリア内膜に存在し、ミトコンドリアの膜電位の維持、形態調節、アポトーシス、ミトコンドリアヌクレオイド形成に関与することが報告されてきた。本研究は、代謝調節で中心的な役割を果たす骨格筋において **PHB2** を特異的に欠損したマウスを作製し、本タンパク質欠失における表現型と代謝リズム変動の関係を検討した。

骨格筋特異的 **PHB2** 欠損 (**M-PHB2**) マウスは、コントロールマウスと比べ体重減少が顕著であり骨格筋の萎縮があった。興味深いことに、**M-PHB2** マウスでは脂肪量が減少しており、血糖の低下、耐糖能の改善という代謝の特徴があった。高脂肪食(**HFD**)負荷では、インスリン抵抗性の改善、脂肪肝の改善が認められた。酸素消費モニターにより代謝リズムを検討したところ、呼吸商の振幅の亢進が認められた。**HFD** で生じた代謝リズムの振幅の抑制も改善傾向が認められ、**M-PHB2** マウスでは暗期の炭水化物代謝の亢進と明期の脂肪代謝の亢進が顕著であることが示された。血清アディポカインの測定では **FGF21** の増加が顕著であった。一般に **FGF21** は **HFD** において肝臓からの生成が亢進する。しかしながら **M-PHB2** マウスでは、通常食下でも骨格筋において **FGF21** の遺伝子発現が顕著に亢進することを示していた。

以上の結果より、**PHB2** の欠失によるミトコンドリア機能障害を原因とした筋萎縮症のマウスでは、痩せと代謝リズムの亢進とが示された。本病態には **FGF21** の強い関与が考えられる。

空腹時血糖の日内リズムは肝の体内時計が制御する

臨床薬理学部門

安藤 仁、牛島健太郎、藤村昭夫

血糖値には日内リズムが認められるため、糖尿病患者の血糖値を適切にコントロールするためにはそのリズム形成機構を十分に理解する必要がある。早朝に空腹時血糖が上昇することが暁現象として知られており、この機序としては深夜に分泌された成長ホルモンが早朝に肝のインスリン抵抗性を高め、肝糖放出が亢進するためであることが示されている。また、中枢時計の存在する視交叉上核を破壊したラットでは暁現象が消失することから、このリズムは中枢時計の制御下にあると考えられる。

近年、時計遺伝子群の発見に伴い、肝糖放出の日内リズムは肝細胞内の体内時計により制御されていることが示唆された。しかしながら、空腹時血糖のリズム（暁現象）形成には中枢時計と肝の末梢時計のどちらがより重要であるかは未だ不明である。そこで本研究では、マウスモデルを用い、肝の体内時計と暁現象との関連を検討した。

雄性 C57BL/6J マウスを 12 : 12 時間の明暗周期下で飼育し 24 時間絶食したところ、絶食を暗期の開始時、明期の開始時のいずれから開始した場合にも、空腹時血糖は暗期の開始時をピークとする日内リズムを呈した。そこで、次に明期のみ給餌する時刻制限給餌を 2 週間行い、肝の体内時計のリズムをシフトさせたところ、空腹時血糖のピーク時刻も約 8 時間後退した。さらに、時計遺伝子 *Bmal1* の flox マウスとアルブミン Cre マウスを交配させることにより作製した肝細胞特異的体内時計障害マウスを解析したところ、コントロール (flox) マウスとは異なり、空腹時血糖の日内リズムは認められなかった。また、C57BL/6J マウスにオクトレオチドを投与し空腹時血糖の推移を調べたところ、成長ホルモン分泌は十分に抑制されていたにもかかわらず明確な暁現象が認められた。

以上より、空腹時血糖の日内リズム（暁現象）は肝の体内時計により制御されており、少なくともマウスにおいては成長ホルモンの分泌なしにも認められ、肝の体内時計の影響は中枢時計による影響よりも大であることが示唆された。

シンポジウム 第2部

室傍核ニューロンによる摂食概日リズム創出

統合生理学部門

中田正範、Putra Santoso、矢田俊彦

全身・脳連関による代謝調節の機序として、これまで、血液脳関門の脆弱な視床下部弓状核(Arcuate Nucleus; ARC)が、栄養素・代謝産物(グルコース、脂肪酸等)やホルモン(レプチン、インスリン等)を感知する一次中枢であり、ARCの活動が二次中枢である室傍核(Paraventricular Nucleus; PVN)に伝達され統合されることにより、エネルギー代謝・摂食・自律神経系が調節されると考えられていた。しかし、我々は、PVNも末梢代謝情報(グルコース、インスリン)を直接感知すること、その際 Nesfatin-1/NUCB2ニューロンが中心的な働きをしていることを明らかにした(Gantulga D et al. *BiochemBiophys Res Commun.* 2012)。また PVN Nesfatin-1/NUCB2発現は明記に上昇する日内変動を示し、その発現リズムが摂食行動リズムと逆相関すること、さらにレプチン受容体遺伝子変異を持つ肥満 Zucker-fatty ラットでは NUCB2 発現リズムが消失することを報告した(Sedbazar U et al. *BiochemBiophys Res Commun.* 2013)。

今回、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV9)を用いて PVN 局所へ NUCB2 shRNA を発現させ、PVN 特異的に NUCB2 をノックダウンしたマウスにおいて、早期に明期の摂食量の増加を認め、続いて一日摂食量と体重の増加を呈した。さらに、ノックダウンマウスでは、肥満に先立って高インスリン血症を伴うインスリン抵抗性を認めた。さらに、末梢及び中枢投与レプチンの摂食抑制作用が減弱しており、レプチン抵抗性を示した。PVN スライス培養においてレプチンは NUCB2 の発現を著明に増加した。さらに、レプチンは単離 NUCB2 ニューロンに直接作用して活性化した。これらの結果は、レプチンの摂食抑制作用の標的として PVN Nesfatin-1/NUCB2 ニューロンの重要性を示している。(Gantulga D et al. *BiochemBiophys Res Commun.* 456:913-918, 2014)。

PVN Nesfatin-1/NUCB2 ニューロンは摂食の概日リズム形成と体重の恒常性に重要であることが明らかとなり、その障害と肥満(症)との関連が示唆される。

脂質代謝の概日リズム

内分泌代謝学部門

山室 大介、大須賀 淳一、坂井 謙斗、高橋 学、永島 秀一、石橋 俊

我が国では、脂質異常症や糖尿病および高血圧症といったメタボリックシンドロームを合併した患者数が増加傾向を示しており、その主な要因として食生活の欧米化による脂肪摂取量の増加や交通手段の発達による運動不足などが挙げられてきた。そのなか、メタボリックシンドロームと概日リズムとの関連が注目されてきた。生活習慣の乱れは概日リズムの異常をきたし、肥満を始めとする様々なメタボリックシンドローム発症のリスクファクターとなることが報告されてきた。そこで、本研究では明暗期および摂食時間の変動が血清および肝臓の脂質、時計遺伝子や脂質代謝関連遺伝子群の発現リズムにどのような影響を与えているのかを検討した。

血清および肝臓の脂質の概日リズムにおける光刺激および摂食刺激の影響を調べた結果、正常な明暗期(明期 12 時間-暗期 12 時間)で飼育されたマウスでは血清および肝臓中のトリグリセライド(TG)は概日リズムを刻むが、常に明期の条件下で飼育したマウスではこの概日リズムは消失した。しかし、消失した肝臓中 TG の概日リズムは常に明期の飼育条件下において夜間帯のみに摂食させることで、その概日リズムは改善した。また、肝臓における時計遺伝子 (*Clock*, *Bmal1*, *Cry1*, *Per1*) および脂質代謝関連遺伝子群 (*DGAT1*, *DGAT2*, *HMG-CR*, *FAS*, *NCEH1*, *HSL*, *ATGL*, *SREBP-1c*, *SREBP-2*, *LXR α* , *PPAR α*) の発現リズムへの影響も検討した。その結果、常に明期の条件下で飼育したマウス肝臓ではこれら遺伝子の発現リズムは減弱または消失していたが、明期飼育条件下に夜間帯のみ摂食させることで、時計遺伝子では *Clock*, *Bmal1*, *Cry1*、脂質代謝遺伝子では *DGAT2*, *HMG-CR*, *FAS*, *NCEH1*, *ATGL*, *PPAR α* の発現リズムが顕著に改善していた。

以上の結果から、時計遺伝子および脂質代謝関連遺伝子の概日リズムは光刺激および摂食刺激による制御を受けており、肝臓におけるこれら遺伝子の発現リズムは摂食刺激の要因が大きい可能性が示された。

新規夜間血圧モニタリングデバイスの開発とその臨床応用

循環器内科学部門

桑原光巨、星出 聡、荻尾七臣

血圧は日中覚醒時に高く、夜間睡眠時に低下するサーカディアンリズムを有する。健常者では一般に、夜間血圧は昼間血圧に比較して10%~20%低下する(Dipper型)が、10%以上低下しないnon-dipper型や夜間血圧が昼間血圧よりも高値を示すRiser型は、臓器障害が進展しており心血管疾患による予後も悪い。Non-dipperやRiser型の原因となる背景疾患として、閉塞性睡眠時無呼吸症候群(OSAS)がある。OSASでは、夜間就寝時に周期的に呼吸が停止し、低酸素血症を繰り返す。これにより、交感神経の亢進に伴い夜間血圧のレベルが上昇するだけでなく、無呼吸に伴って一過性に急激な血圧上昇(スリープサージ)が発生し、心血管疾患発症の強力なリスク要因となる。

我々は最近、血中酸素飽和度の低下をトリガー信号として血圧測定を起動させ、睡眠時無呼吸に伴う血圧上昇を検出する新規夜間血圧モニタリングデバイスを開発し、その臨床応用を開始した。本研究では、同デバイスを147名のOSASに適用し、スリープサージを含めた夜間血圧指標のレベルや分布および再現性を評価した。

対象は、睡眠時無呼吸症候群の疑いのある147名で、全例に対し、終夜ポリソムノグラフィー(PSG)と夜間血圧モニタリングシステムの同時計測を2晩連続で実施した。夜間血圧は、30分間隔による一定間隔測定に加えて、就寝開始直後の血中酸素飽和度のベースラインより10%低下した際に自動的に測定するように設定した。一定間隔測定による夜間血圧の平均値を夜間平均血圧、低酸素によりトリガー計測された血圧の中での最大値をトリガーピーク血圧と定義し、解析を実施した。

結果、トリガーピーク血圧(mean±SD: 148.8±22.2 mmHg)は夜間平均血圧(123.4±14.9 mmHg)よりもおよそ25mmHgほど高値を示し、分布幅も大きかった。夜間平均血圧およびトリガーピーク値の閾値をそれぞれ140mmHgおよび160mmHgとすると、閾値以上の患者の割合はそれぞれ11.9%, 28.0%であった。また、夜間平均血圧(ICC:0.80)およびトリガーピーク血圧(ICC:0.69)の再現性は良好な値を示した。

従来の夜間血圧測定法である一定間隔測定では、睡眠時無呼吸の時相に同期して血圧測定できないが、我々が開発した低酸素トリガー血圧測定により、睡眠時無呼吸に伴う急激な血圧上昇を再現性良く検出できることが実証された。今後は、トリガーピーク血圧と臓器障害および予後との関連を示すエビデンスの構築を進める予定である。

自閉性障害の概日リズム異常と病因遺伝子解析

発達医学部門、人類遺伝学研究部、愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・神経制御学部

松本 歩、楊志 亮、中山一大、神保恵理子、岩本禎彦、永田浩一、山形崇倫

(背景) 自閉性スペクトラム障害(ASD)患者の 44~83%で睡眠障害を合併し、食行動異常や消化器系の障害も多く観察されることから、概日リズム異常が病態に関連すると推定される。夜間の尿中メラトニンが ASD 群で有意に低下しているとの報告や、*PER1*、*MTNR1A*、*MTNR1B*と ASD の関連についての報告がある。ASD の睡眠障害および病態への時計遺伝子の関与を解明するため、時計遺伝子を網羅的に変異解析した。

(方法) 対象は、DSM-IV または-5 で診断した ASD 患者で親に承諾を得た、睡眠障害を持つ 14 名、および睡眠障害がみられない 14 名。コントロールは 23 名。リンパ芽球から DNA を抽出した。*BMAL*、*PER* など時計遺伝子、メラトニン受容体などの関連遺伝子、ASD と概日リズムとの関連が推定されるオキシトシン受容体とセクレチン受容体(*SCTR*)等の 23 遺伝子を選択し、各エクソンをキャプチャーし、次世代シーケンサーGS junior (Roche 社)を用いて塩基配列を決定した。変異は、ダイレクトシーケンスで確認した。なお、本研究は自治医科大学遺伝子解析研究倫理委員会の承認を得た。

(結果) ASD で睡眠障害あり群で 6/14 例、ASD で睡眠障害なし群で 7/14 例で新規の非同義置換の変異が見られた。コントロール群では 1/23 例であり、ASD 群では睡眠障害あり群($P=0.007$)、なし群($P=0.002$)、および ASD 全体(睡眠障害あり群+なし群 $p=0.001$)で有意に高率に遺伝子変異を有していた。このうち、睡眠障害を有する *TIMELESS* の p.F498S 変異例では、低身長および軽度の社会性の障害、興味の限定、繰り返し行動および消化器症状が見られた。メラトニンのピークが正常と比べ約 5 時間遅れており、高照度光療法でも変化しなかった。一方マウスでは、*TIMELESS* は胎生 13.5 日~生後 30 日の大脳皮質および海馬に発現しており、エレクトロポレーション法による胎生 14.5 日のマウス胎児脳への *TIMELESS*p.F498S 変異の挿入により大脳皮質での神経細胞の移動障害が見られた。

(考察)ASD 群では睡眠障害あり群、なし群とも高率に時計遺伝子変異を有し、時計遺伝子が ASD の発症に関与していることが示唆された。*TIMELESS* は DNA の合成、修復や、アポトーシスに関連していることが報告されている。本研究により *TIMELESS* が自閉症状、光のメラトニン分泌への作用に関与している可能性が示唆された。マウスにおいて、p.F498S 変異が神経細胞の発達期に作用することが考えられたことから、今後さらにノックアウトマウスを用いた解析を予定している。また、*TIMELESS* 以外に検出された変異遺伝子に関しても、順次解析していく。

児童思春期の摂食障害における睡眠障害

子どもの心の診療科

星野美幸、佐藤和繁、牧口暁子、阿部隆明

摂食障害、特に神経性無食欲症は、わが国の小児でもまれな疾患ではなくなっており、最近の調査では罹患率の増加や低年齢化が指摘されている。当科においても摂食障害は2013年度の新規外来患者の8.2%、新規入院患者においては48.4%と高率を占めている。

その摂食障害における睡眠障害については、高率に睡眠の乱れが認められ、また睡眠の問題がある摂食障害患者は症状が重症化するという報告があるが、児童思春期の摂食障害に限った睡眠障害についての研究報告はなく、児童思春期の摂食障害患者における睡眠障害の合併と、その患者背景を比較検討することを本研究の目的とした。

2007年4月から2014年11月までに当科に入院歴のある摂食障害の症例128例(男児2例、女児126例)を対象とした。症例の内訳は神経性無食欲症74例、非定型神経性無食欲症41例、神経性大食症13例だった。入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒いずれかの自覚症状がある場合、睡眠障害が合併していると判定した。

摂食障害患者(13歳~49歳)の50.3%に睡眠障害を認めるという先行研究と比較すると、当研究における合併率は全症例においては34.4%と低く、定型の神経性無食欲症に限ると29.7%と更に低値を示した。臨床診断は成人例であれ児童思春期例であれ同一の基準に基づき行われるが、今回の結果からは、それぞれの病態生理に部分的な相違点がある可能性が考えられる。

またアルブミン低値と睡眠障害の合併に関連があることが示唆された。先行研究ではBMIと脳波における睡眠時徐波活動量の正の相関が指摘されており、アルブミン低値が低体重、低栄養状態によるものと考えたと、先行研究と結果に矛盾がない。

更には定型と非定型の神経性無食欲症に分類し、それぞれの特性を比較すると、発症年齢や血液検査データ、過活動の有無において有意差が認められた。一方でそれぞれのBMIや睡眠障害の合併率には有意差はなかった。神経性無食欲症が単なる栄養障害ではない別の病態が存在することが示唆される。また定型の神経性無食欲症に限定し、過活動の有無による比較を行った結果からは、発症年齢と抗うつ薬の投与率以外に有意差はなかった。過活動と睡眠障害の相関は乏しいと考えられる。一方で睡眠障害のある定型神経性無食欲症においては、睡眠障害のない群に比べ、高率に排出行為が認められたことから、摂食障害で認められる睡眠障害の背景には不規則な栄養摂取が存在する可能性があり、栄養障害の改善のみでなく、食生活のリズム調整も同時に考慮すべきであろう。