

氏 名 ・ (本籍)	佐藤 雅俊 (秋田県)
専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	医博甲第 874 号
学位授与の日付	平成 27 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科 ・ 専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Noninvasive detection of sleep/wake changes and cataplexy -like behaviors in orexin/ataxin-3 transgenic narcoleptic mice across the disease onset (発症前後のナルコレプシーモデルマウスにおける睡眠覚醒変化とカタプレキ シー様行動の非侵襲的解析)
論文審査委員	(主査) 教授 尾野 恭一 (副査) 教授 高橋 勉 教授 長谷川 仁志

学位論文内容要旨

Noninvasive detection of sleep/wake changes and cataplexy-like behaviors in orexin/ataxin-3 transgenic narcoleptic mice across the disease onset (発症前後のナルコレプシーモデルマウスにおける睡眠覚醒変化とカタプレキシー様行動の非侵襲的解析)

申請者氏名 佐藤 雅俊

研究目的

ナルコレプシーは、繰り返し出現する昼間の耐えがたい眠気と、強い情動の変化に誘発される情動脱力発作(カタプレキシー)を主要症状とする慢性疾患である。ナルコレプシーの動物モデルである orexin/ataxin-3 transgenic (TG) マウスはヒトのナルコレプシーとよく似た表現型を示す。TG マウスにおけるオレキシン含有ニューロンは生後選択的に減少し、生後 84 日には 99% が消滅する。成長期の幼若マウスでは脳波 (EEG) ヘッドステージの埋込が困難なため、これまで疾患発症前後の睡眠の測定がなされたことはない。今回の研究では、体動・心拍・呼吸を非侵襲的に測定することが可能な Piezo (PZT) システムを用いて、ナルコレプシーモデルマウスにおける疾患発症前後の睡眠覚醒の変化を調べた。

研究方法

TG マウスとワイルドタイプ (WT) マウスを各 6 匹ずつ用い、PZT システム上で 3 時間の PZT シグナルを記録した。測定はナルコレプシー発症前後である、生後 14、28、56、84、98 日と繰り返し行った。PZT シグナルの平均レベルと標準偏差 (SD) を求め、PZT 信号を 1 秒エポックごとに、そのパワー値が 1SD を超えている場合にはそのエポックを Wake とし、それ以外を Sleep とした。Wake と Wake の間が 20 秒未満である場合には resting (Wake without movement) と考えられ Wake とした。その上で、連続した同じ状態のエポックを睡眠/覚醒持続時間とした。10 秒未満の覚醒持続時間はノイズや睡眠覚醒移行状態と判断し Sleep とした。以上のアルゴリズムを作製し、睡眠覚醒判定の自動解析を行った。睡眠量と覚醒量および睡眠/覚醒持続時間を算出し、年齢における変化を比較した。

また WT マウス 4 匹を用い、EEG と PZT シグナルを同時記録する実験を行った。PZT シグナルの自動解析と EEG の手動解析の睡眠判定の一致率を求め、PZT システムをレム睡眠検出に応用できるか検討した。

さらに、TG マウス 6 匹を PZT システム上でビデオ録画し、PZT システムでのカタプレキシー様行動の検出感度を評価した。

研究成績

TG マウスでは睡眠持続時間が年齢とともに減少したが、WT マウスでは年齢による変化を認めなかった。生後 84 日以降では genotype 間で有意な差を認めた。睡眠量と覚醒量に年齢や genotype での有意差は認められなかった。

また、マウスの体動がないときに心拍が検出される特徴的な PZT シグナルを発見し、”Immobility with heartbeat (IMHB) signals” と名付けた。IMHB は緩やかに開始する IMHBg と突然開始する IMHBs に区別された。IMHBg は両 genotype で同程度の頻度で出現したが、IMHBs は TG マウスに生後 14 日から特異的に出現し、年齢とともに増加する傾向にあった。

PZT シグナルの自動解析と EEG の手動解析の睡眠判定の一致率は 73.1% であった。PZT システムでのレム睡眠検出感度は 67.8%、検出特異度は 92.8% であった。また、PZT システムでのカタプレキシー様行動の検出感度は 83.5% であった。

結論

本研究において、PZT システムは非侵襲的に睡眠やその他の生体信号を記録するのに有効であり、ナルコレプシーマウスにおける疾患発症前後の睡眠の分断化の進行を検出することが可能であった。また、IMHB は休息時かつ筋弛緩が起こっている場合に出現すると考えられ、IMHBg はレム睡眠を反映し、IMHBs はカタプレキシーを反映している可能性が考えられた。

PZT システムは、出生直後のマウスから非侵襲的に測定することができるため、睡眠の発達過程や疾患の発生機序・経過などの解明につながる新たな睡眠実験法として期待が持てると考えられた。

学位(博士一甲)論文審査結果の要旨

主査：尾野 恭一

申請者：佐藤 雅俊

論文題名： Noninvasive detection of sleep/wake changes and cataplexy-like behaviors in orexin/ataxin-3 transgenic narcoleptic mice across the disease onset.

(発症前後のナルコレプシーモデルマウスにおける睡眠覚醒変化とカタプレキシー様行動の非侵襲的解析)

要旨

本研究は、ナルコレプシーマウスモデルである orexin/ataxin-3 トランスジェニックマウス (TG マウス) において疾患発症前後の睡眠覚醒パターンの変化を明らかにすることを目的とし、ピエゾセンサーを用いた非侵襲的な睡眠覚醒検出法を導入するとともに脳波計による測定結果との比較検討をおこなった。その結果、1) ピエゾ信号及び脳波による睡眠判定の一致率は 73.1%と高く、ピエゾセンサーによる睡眠の自動検出が可能であった。また、ピエゾセンサーのレム睡眠検出感度は 67.8%、検出特異度は 92.8%、カタプレキシー様行動の検出感度は 83.5%であった。2) TG マウスにおいては睡眠持続時間が年齢と共に減少し、生後 84 日以降では TG マウスと野生型との間に有意な差が認められた。3) マウスの体動が無いときに心拍が検出されるピエゾ信号を発見し Immobility with heartbeat (IMHB) signals と命名した。IMHB はゆるやかに開始する IMHBg と突然開始する IMHBs に区別され、IMHBg は野生型、TG マウス共に同程度で出現したが、IMHBs は TG マウスに特異的に出現し年齢と共に増加する傾向にあった。以上により、ピエゾシステムはナルコレプシーマウスモデルにおける疾患発症前後の睡眠の分断化の進行を検出することが可能であり、本モデルを用いた新たな睡眠実験法として期待ができると結論づけられた。さらに、IMHBg はレム睡眠を IMHBs はカタプレキシーを反映している可能性が示唆された。

った。

本論文の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

1) 斬新さ

マウスのような小動物において、非侵襲的に睡眠覚醒を検出する手法は極めて斬新である。ピエゾセンサーが小動物での心拍測定に有効であることは報告されているが、睡眠覚醒の検出にまで及ぶことは驚きであり、本センサーの可能性を期待させる。ナルコレプシーモデルマウスを用いた研究においては主として脳波など侵襲的な測定法が用いられているが、非侵襲的な測定法の正確性を示した本研究は極めて斬新であり、今後の普及と発展が期待できる。

2) 重要性

ナルコレプシーモデルマウスにおいて睡眠覚醒パターンを正確に測定した実験は少なく、著者らの研究は極めて重要であると思われる。今後、ヒトを含め哺乳類全般について、ナルコレプシーの原因解明及び治療法開発を進めていく上で、貴重なデータを提供している。

ピエゾセンサーを導入した測定から、IMHB と申請者が名づけた新たな測定パラメータが提唱されている。IMHBg はレム睡眠を IMHBs はカタプレキシーを反映していると主張しているが、そうであれば本研究で導入したピエゾセンサーシステムの有用性はさらに高まるのではないかと。生理的な睡眠覚醒リズムや病態との関連が注目される。今後の研究の発展を期待したい。

3) 実験方法の正確性

ピエゾセンサーを用いた測定法については、機器の開発・設計を自ら行っており、マウスを取り扱いについても環境温度や睡眠サイクル、照明など、可能な限り生理的に近い状態を維持するなど細心の配慮がうかがえる。また、ピエゾセンサーによる検出結果を脳波によるものと比較検討するなど、科学的な考察が行き届いた実験手法を採用している。正確性に何ら問題はない。

4) 表現の明瞭さ

研究の背景、研究方法・方法・結果および考察が明瞭に記載されている。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定された。