

氏 名 柏木 光昭  
学位の種類 博士（神経科学）  
学位記番号 博甲第 9521 号  
学位授与年月 令和 2 年 3 月 25 日  
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
審査研究科 人間総合科学研究科  
学位論文題目 Genetic analysis of neurons involved in sleep-wake regulation

(睡眠制御に関わる神経細胞の遺伝学的手法を用いた解析)

主査	筑波大学教授	博士（医学）武井 陽介
副査	筑波大学准教授	博士（医学）坂口 昌徳
副査	筑波大学教授（連携大学院）	博士（理学）高島 一郎
副査	筑波大学助教	博士（工学）鶴田 文憲

## 論文の内容の要旨

柏木光昭氏の審査対象論文は、特にノンレム睡眠に着目し、その制御機構を明らかにしている。本研究ではマウス分子遺伝学を中心の手法とし、さらにニューロサイエンスの先端的手法を駆使し、ノンレム睡眠を促進する働きのある神経回路を明らかにし、更にそれを構成するニューロンがニューロテンシン陽性ニューロンであること、またニューロテンシンの睡眠制御における機能を明らかにしたものである。その要旨は以下の通りである。

哺乳類の睡眠はレム睡眠とノンレム睡眠にわけられる。レム睡眠は夢と関連する睡眠であり、急速眼球運動を伴う。一方、ノンレム睡眠は特徴的な脳波所見（Slow wave）を伴い、成長ホルモン分泌や記憶の固定化に重要な役割を果たす。レム睡眠、ノンレム睡眠の制御メカニズムは生理学的に重要であるばかりでなく、睡眠障害を伴う精神神経疾患の病態を理解するための鍵であると考えられている。睡眠の制御部位としては、古くから lesion study 等を用いた多くの先行研究により視床下部及び脳幹部がこれまで注目されてきたが、レム睡眠およびノンレム睡眠を制御する具体的な神経回路やネットワークを構成するニューロンの性質については未だ不明の点が多く、詳しい解明が期待されている。

著者は、脳幹部の sublaterodorsal tegmental nucleus (SubLTD) という脳神経核に注目した。(SubLTD がレム睡眠制御に関与すると言われていたが、近年の先行研究では、この神経核における菱脳唇由来のニューロン (Atoh1 系統ニューロン) にノンレム睡眠を促進する働きがあることが示されている。このニューロンに発現する遺伝子をマイクロアレイを用いて解析したところニューロテンシンのメッセンジャーRNA 発現がこのニューロンで高いことがわかったため、ニューロテンシン陽性ニューロンに注目して解析をすすめられた。

Chapter I では、ニューロテンシン陽性ニューロンの神経伝達物質についてまず検討がなされ、その大部分がグルタミン酸作動性であり、一部が GABA 作動性またはコリン作動性であることが述べられている。Chemogenetic な神経活動操作により SubLTD のニューロテンシン陽性ニューロンを特異的に活性化するとノンレム睡眠の促進が見られ、逆にテタヌトキシンで不活性化するとノンレム睡眠が減少する

ことが判明したと記載されている。

Chapter II では、anterograde tracing と Chemogenetic activation を組み合わせ、SubLTD のニューロテンシン陽性ニューロンのダウストリームで働くニューロンの存在する神経核が以下の3か所であることを明らかにしている。すなわち、dorsal deep mesencephalic nucleus (dDpMe)、lateral part of the periaqueductal gray (lPAG)、medial vestibular nucleus (MVe) の3か所である。これらの脳神経核においてもノンレム睡眠促進作用をもつニューロンはニューロテンシン陽性であることがわかった。以上より、SubLTD から dDpMe、lPAG、MVe に至るニューロテンシン陽性ニューロンのネットワークがノンレム睡眠をポジティブに制御していることが明らかにされている。

Chapter III では、ニューロテンシンをマウス第4脳室に注入した結果が述べられている。第4脳室とは、橋や延髄などの脳幹部の背側にあり、ここへの投与によりニューロテンシンの脳幹への作用を直接的に検討することができる。ニューロテンシンを投与されたマウスは行動が抑制され、その脳波はノンレム睡眠時と類似のパターンを示した。一方、ニューロテンシンノックアウトマウスではレム睡眠が増加していることがわかり、ニューロテンシン自体がノンレム睡眠の制御に関わることが明らかになったとしている。

以上、Chapter I、Chapter II、Chapter III の結果により、ノンレム睡眠を促進する神経ネットワークが脳幹部に広く存在していること、その神経ネットワークを構成するニューロンがニューロテンシン陽性ニューロンであること、それらのニューロンのニューロテンシン自体が睡眠制御に関わることが明らかにされている。

#### (批評)

睡眠はレム睡眠とノンレム睡眠から成る。審査対象論文は、成長ホルモン分泌や記憶の固定化に重要であるノンレム睡眠に着目し、いままで知られていなかった新しい制御機構を明らかにしている。本研究ではマウス分子遺伝学を中心の手法とし、さらに Chemogenetic activation 等の先端的手法を駆使し、ノンレム睡眠を促進する働きのある神経回路を明らかにした。更にそれを構成するニューロンがニューロテンシン陽性ニューロンであること、またニューロテンシンの睡眠制御における機能を明らかにしたものである。以上の結果は生理学的に重要な課題を解明した非常に意義の高いものであり、データのクオリティ、論文の完成度、学位審査での質疑応答の内容全て申し分なく、学位授与に十分な質を持つものである。

令和2年1月28日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士(神経科学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。