

氏名	藤飯 慎也		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 9337 号		
学位授与年月	令和2年1月31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	The effect of acute social defeat stress on sleep in mice (マウスにおける社会敗北ストレスの睡眠に対する即時的影響についての検討)		
主査	筑波大学教授	松崎 一葉	医学博士
副査	筑波大学教授	島野 仁	博士（医学）
副査	筑波大学教授	高橋 智	医学博士
副査	筑波大学准教授	Vogt Kaspar	Ph.D. Neuroscience

## 論文の内容の要旨

藤飯慎也氏の博士学位論文は、マウスにおける社会敗北（social defeat : SoD）ストレスの睡眠覚醒への効果を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

### （目的）

著者はまず、動物におけるストレス反応について概説し、その外界への適応における役割とともに動物個体への負荷について論じている。さらに、睡眠の調節機構や恒常性維持における多様な役割についても概説している。過度なストレスは精神疾患のリスクを上昇させる。また、不適切な睡眠は精神疾患に悪影響を及ぼす。したがって、ストレスの睡眠恒常性への影響を理解することは重要である。社会ストレスは人間社会におけるストレスの主要な原因の一つである。著者は、先行研究において、マウスにおける急性の SoD ストレスのその後の睡眠量への効果に関して、一貫した結果が得られていないことを明らかにしている。これまでの報告では SoD ストレス中のマウスの行動が詳しく報告されておらず、攻撃を受ける頻度や攻撃の激しさにより、その後の睡眠への影響が変化した可能性が考えられた。本論文では、SoD ストレス中の行動のばらつきを抑えた新規 SoD プロトコルを開発し、その睡眠覚醒への影響を評価することを目的としている。

### （方法）

著者はオスの C57BL/6j マウス（13～20 週齢）を用いて、オスの CD-1 マウスからの攻撃曝露による SoD を受けた後の、急性の睡眠覚醒への影響を評価している。マウスには、脳波および筋電電極が手術的に設置され、脳波および筋電図に基づき、10 秒ごとの睡眠覚醒の評価が行われている。CD-1 マウスについては、繁殖コロニーの退役動物から高い攻撃性により選別されたものが、SoD ストレスに用いられている。1 時間の SoD ストレス中、対象の C57BL/6j マウスは CD-1 マウスのケージに移された。攻撃による怪我や過剰な痛みを抑えるため、両マウスは仕切りで仕切られ、1 時間中に 2、4 あるいは 8 回、仕切りを取り除くことで物理的接触による SoD が引き起こされた。仕切りは透明なアクリル板で作成され、下部には金網の窓が設けられており、CD-1 マウスからの視覚、聴覚および嗅覚刺激が伝わるように

設計されている。ストレスレベルを評価するため、心臓穿刺術により血液が採取され、血漿中のコルチコステロン濃度が ELISA により定量されている。

#### (結果)

SoD ストレス後 9 時間中において徐波睡眠の増加がみられた。その増加量は CD-1 マウスとの物理的接触回数の異なる SoD ストレス群間で、統計的に有意な差は認められなかった。一方で、増加量の偏差は、物理的接触回数 4 回の群において、他群よりも有意に小さいことが示された。SoD ストレス後の血漿コルチコステロンレベルは、ベースラインおよびストレスのコントロール群と比較し、有意に高値を示した。一方で、物理的接触回数の異なる SoD ストレス群間ではコルチコステロンレベルに有意な差は認められなかった。物理的接触回数 4 回の群における睡眠変化について、コントロール群との比較が行われ、その徐波睡眠増加量はコントロール群のものよりも有意に大きいことが示された。さらなる解析により、徐波睡眠増加は、徐波睡眠ごとの長さを変えずに、覚醒から徐波睡眠への切り替りの促進によることが明らかにされた。睡眠要求の指標としての徐波睡眠中の徐波は、SoD ストレス直後に大きく増強した一方で、3 時間後以降には有意な増強は見られなかった。

#### (考察)

著者は、マウスにおける SoD ストレスのその後の睡眠量への効果に関して、先行研究では報告やプロトコルにより異なった結果が得られていることを記述している。SoD 中のマウスの行動のばらつきが睡眠への効果に違いをもたらすことから、本研究ではマウスの行動のばらつきを抑えた新規 SoD プロトコルを開発し、睡眠覚醒への影響を評価している。その結果、敗北マウスに対する CD-1 マウスによる過剰な攻撃を防いだ際に、SoD ストレスはその後の徐波睡眠を増加させることを明らかにしている。さらに著者は、物理的接触回数の異なる SoD ストレスにおいて睡眠への影響を比較し、4 回の群において最も一貫した徐波睡眠の増加を見出している。また、著者はコントロール群との比較から、徐波睡眠増加量の少なくとも約半分は、SoD ストレスに特異的な効果であることを示している。さらに著者は、SoD ストレス後における徐波の顕著な増強から、SoD ストレスが睡眠要求を増加させることを明らかにしている。一方で、著者は、徐波の増強が短時間で終息したのに対し、徐波睡眠量の増加は約 9 時間と、より長時間にわたって認められることから、それぞれ異なるメカニズムにより制御されている可能性を見出している。

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

本研究は、敗北マウスに対する過剰な攻撃を防いだ際に、徐波睡眠量が増加することを示したところに新規性がある。これは、社会ストレスの睡眠恒常性への影響の理解するうえで価値のある研究であり、将来的にはヒトの社会的ストレスを評価する系の確立に示唆を与えるものである。また、動物の行動のばらつきを抑えるように考案された新規 SoD プロトコルは、ストレスによる睡眠恒常性変化のメカニズムの実験をデザインするうえで、ユニークな試みであり、今後さらなる研究を重ねることにより、汎用性が得られる可能性がある。

令和元年 11 月 13 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（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。