



2008年3月25日  
国立大学法人名古屋大学  
独立行政法人理化学研究所

## 大脳皮質の抑制性シナプス伝達効率が睡眠・覚醒で異なることを発見 — 睡眠の働きの解明に向けた新しい糸口となる知見—

### 本研究成果のポイント

- 睡眠・覚醒時の神経細胞の膜電位変化が、抑制性シナプス伝達効率を両方向に調節
- 伝達効率の調節は、GABA<sub>A</sub>受容体のシナプス部への挿入、除去で実現
- 睡眠・覚醒に伴う生理現象の機能解明に向けた新しい研究手法確立につながる可能性

国立大学法人名古屋大学と独立行政法人理化学研究所は、睡眠時に発生する特異的な神経活動パターンが大脳皮質の抑制性シナプスの伝達効率<sup>\*1</sup>を高めることを世界で初めて発見しました。本研究は名大環境医学研究所神経系分野の黒谷亨・前講師（現独立行政法人理化学研究所総合研究センター脳皮質機能構造研究チーム研究員）が山田和政研究員、吉村由美子准教授、小松由紀夫教授と共同し、理研と米エール大学の協力を得て達成した成果です。

睡眠中の脳の活動は、記憶・学習などの高次脳機能に多大な影響を与えることが報告されていますが、睡眠時に特異的に見られる大脳皮質神経細胞の活動パターンが、脳の情報処理に対して具体的にどのような影響を与えるかはよくわかっていませんでした。

睡眠中の哺乳類の脳波パターンは、睡眠の種類に依存して変化します。睡眠には「REM (Rapid Eye Movement) 睡眠」と、それ以外の「non REM 睡眠」がありますが、REM 睡眠時には覚醒時に近い、比較的周波数の高い低振幅の脳波が、また non REM 睡眠時には、ゆっくりとした振幅の大きな脳波が出現します<sup>\*2</sup>。こうした大振幅徐波が発生するのは、non REM 睡眠時に、大脳皮質の多数の神経細胞の膜電位<sup>\*3</sup>が同期して低周波(0.5 から 1Hz)振動していることが原因であるとされています。また覚醒時には、この膜電位の低周波振動は消失し、やや脱分極<sup>\*3</sup>した状態で連続的に活動電位が生じます。このような神経細胞の活動パターンの違いは、睡眠・覚醒に付随的に生じる現象だと従来は考えられてきました。今回研究グループは、この活動パターンの違いが、脳の情報処理に何らかの影響を与えている可能性について検討しました。

研究グループは、これまでに、ラットの脳切片標本を用い、覚醒状態に似た活動パターンを1個の大脳皮質の神経細胞に生じさせると、その細胞に入力する抑制性シナプスの伝達効率が長期的に減弱する現象が発生することを報告しています。今回、さらに、徐波睡眠時に似た活動パターンが、抑制性シナプスの伝達効率に長期増強を引き起こすことを発見しました。また、実際に睡眠中の大脳皮質の抑制性シナプス応答が、覚醒時のそれよりも大きいことも明らかにしました。さらに、研究グループはその分子メカニズムについて調べ、GABA<sub>A</sub>受容体<sup>\*4</sup>がシナプス後部に挿入、あるいは除去されることが長期抑圧、増強の実体であることを解明しました。これにより、睡眠の働きの解明する上での新しい手がかりが得られます。

本研究成果は、文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「神経回路機能」（領域代表：狩野方伸）の一環として行われ、米国の科学雑誌『*Neuron*』（3月27日号）に掲載されます。

## 1. 背景

ヒトは、人生の約 3 分の 1 を眠って過ごします。しかしながら、ヒトを含めた多くの動物がなぜ眠るのか、眠らなければならないのか、という問いに対する明確な答えを、私たちはいまだ得ていません。睡眠の働きとして、エネルギーの節約、活動により高まった脳の温度を下げる、あるいは活動により蓄積した老廃物の除去、など種々の仮説が提唱されてきました。近年、睡眠が脳の可塑性現象<sup>\*5</sup> に関与していると注目されており、例えば、睡眠中には覚醒時に体験した事柄の記憶の定着が起こること、また、学習した内容が睡眠時に時間圧縮された状態でリプレイされていることなどが報告されています。さらに、徐波睡眠<sup>\*2</sup> 時に脳波と同じ周波数の刺激を被験者に与えると、記憶の定着効率が高まるという報告があり、睡眠が記憶・学習といった脳の高次機能に影響を与えうる、積極的な過程であることを示唆しています。

研究グループは、大脳皮質の「錐体細胞」と呼ばれる出力細胞<sup>\*6</sup> に現れる、睡眠・覚醒時に特異的な膜電位の活動パターンの違いに着目し、それらが錐体細胞へ入力する抑制性シナプス伝達に及ぼす影響を、ラットの大脳皮質スライス標本において、主に電気生理学的手法を用いて調べてきました。その結果、錐体細胞を覚醒時のパターンで強制的に活動させると、その後抑制性伝達が長期的に減弱することを発見しました(Kurotani et al., 『*Neurosci. Lett.*』 2003)。この長期抑圧には、L 型の電位依存性カルシウムチャンネル<sup>\*7</sup> の活性化が必要であることも同時に明らかにしましたが、その分子メカニズムや、睡眠時の活動パターンの効果については未解明でした。

## 2. 研究手法と成果

### (1) 大脳皮質錐体細胞の抑制性シナプス伝達の違い

研究グループは、ラットの大脳皮質視覚野第 5 層にある大型の錐体細胞の細胞体部に生じる抑制性シナプス後電流 (inhibitory postsynaptic current: IPSC) を記録しました。テスト刺激として、覚醒状態の活動パターンに似た電気刺激を記録細胞に与えると、IPSC の振幅が長期的に小さくなる「長期抑圧」が起こりました。これに対し、徐波睡眠状態の活動パターンに似た電気刺激を与えた場合には、IPSC の振幅が大きくなる「長期増強」が誘発されました (図 1)。このことから、睡眠状態にあるラットの大脳皮質では、覚醒時に比べて抑制性応答が増強している状態にあることが明らかとなりました。

### (2) 徐波睡眠状態と覚醒状態の抑制性シナプス伝達効率

次に、実際に徐波睡眠状態、あるいは覚醒状態にあるラットを急速に麻酔し、スライス標本を作製して、両者で IPSC の大きさに差があるか否かを測定しました。徐波睡眠状態と覚醒状態のラットには、同じ日に生まれた兄弟のペアを用いました。覚醒時と睡眠時の 4 組のペアを調べた結果、徐波睡眠状態にあった標本の方が、覚醒状態にあった標本よりも IPSC の振幅が有意に大きいことが明らかになりました (図 2)。つまり、徐波睡眠下では大脳皮質錐体細胞は、覚醒時より強い抑制を受けていることとなります。結果として、徐波睡眠時の大脳皮質からの出力は、覚醒時より低下していると考えられます。

### (3) 抑制性シナプス伝達効率を調節する分子メカニズムの解明

こうした睡眠・覚醒時の差を引き起こす分子メカニズムを調べるために、研究グループは

L型とR型という2種類の電位依存性カルシウムチャンネルについて、薬理的な解析を行いました(図3)。長期抑圧に関与しているL型チャンネルを、特異的阻害剤「ニフェジピン」を投与して阻害した後、覚醒タイプの活動パターンで錐体細胞を発火させると、長期抑圧ではなく長期増強が現れました。一方、R型チャンネル特異的阻害剤「SNX-482」を投与した後、徐波睡眠タイプの活動パターンを与えると、長期増強ではなく長期抑圧が現れました。このことから、長期増強には、R型の電位依存性カルシウムチャンネルの活性化が必要であることが判明しました。ニフェジピンとSNX-482の両方を投与した場合は、覚醒、徐波睡眠いずれの活動パターンを与えても長期的変化は生じませんでした。これらの結果から、IPSCの長期抑圧、長期増強はそれぞれ、L型、R型チャンネルで独立して制御されていることが明らかとなりました。

さらに、それぞれのチャンネルからカルシウムイオンが流入した後のメカニズムを調べると、長期抑圧・増強の発現には、抑制性シナプスの後細胞膜から、伝達物質であるγアミノ酪酸(GABA)を受け取るGABA<sub>A</sub>受容体を取り除かれたり、挿入されたりする過程が関与していることも明らかになりました(図4)。GABA<sub>A</sub>受容体が後細胞膜から取り除かれるのを阻害し、後細胞膜にあるGABA<sub>A</sub>受容体の密度が高いままだと、長期増強が誘発されました。逆に、GABA<sub>A</sub>受容体が後細胞膜へ挿入されるのを阻害し、後細胞膜にあるGABA<sub>A</sub>受容体の密度が低いままだと、長期増強が阻害されました。このことから、覚醒時には後細胞膜にあるGABA<sub>A</sub>受容体の密度が減少し、徐波睡眠時には逆に密度が増大することが、長期抑圧、長期増強発現の実体であることがわかりました。

以上の結果から、覚醒・睡眠時の抑制性シナプス伝達効率のメカニズムが明らかとなりました(図5)。覚醒時、錐体細胞の膜電位はやや脱分極し、持続的な発火をしています。このときは、L型カルシウムチャンネルの活性化が優位になり、GABA<sub>A</sub>受容体のシナプス後膜から細胞内への取り込みが多くなり、結果として抑制性応答は減弱します。徐波睡眠時には、錐体細胞の膜電位は低周波で振動し、その振動の頂点で繰り返し発火が起こります。この場合、L型も活性化しますが、R型カルシウムチャンネルの活性化が起こり、その経路が優位になると、GABA<sub>A</sub>受容体が細胞内からシナプス後膜へ挿入され、抑制性応答の増強が起こります。

### 3. 今後の期待

本研究により、睡眠・覚醒時の錐体細胞の活動パターンが、その細胞に入力する抑制性シナプスの伝達効率を、長期増強、長期抑圧の両方向に制御していることが明らかとなりました。こうした両方向性の制御は、脳の情報処理にとっても妥当なメカニズムであると考えられます。覚醒時には、脳は外界から多数の入力を受け、それに対処するためにさまざまな出力をしなければなりません。そのために、錐体細胞への抑制性シナプスの入力を抑えて興奮性を上昇させる必要があります。逆に徐波睡眠時には、抑制性シナプスの入力を強めることで出力を下げ、局所的な細胞群で同期することにより、覚醒時とは異なる情報処理を行っている可能性があります。事実、徐波睡眠時は大脳からの出力が低下し、刺激に対する反応もほとんど消失することが知られています。徐波睡眠時に、私たちは意識を失っていますが、錐体細胞が強く抑制されているためにこのような状態になる、とも考えられます。

今年に入り、他の研究グループにより、睡眠・覚醒状態に応じて興奮性シナプス伝達効率も変化していることが報告されました。これは、私たちの知見と相補的な関係にあると考えら

れます。睡眠・覚醒時の抑制性シナプスおよび興奮性シナプスの伝達効率についての知見がそろったことは、睡眠の働きを解明する上での新しい手がかりとなります。このような新しい知見を通じ、睡眠が脳の情報処理過程をダイナミックに制御・統合あるいは整理していることが明らかになりつつあります。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 脳皮質機能構造研究チーム

研究員 黒谷 亨 (くろたに とおる)

TEL : 048-462-1111 内線 7119・7346

FAX : 048-467-6420

(報道担当)

国立大学法人名古屋大学 広報室

TEL : 052-789-2016 FAX : 052-788-6272

独立行政法人理化学研究所 広報室

TEL : 048-467-9272 FAX : 048-462-4715

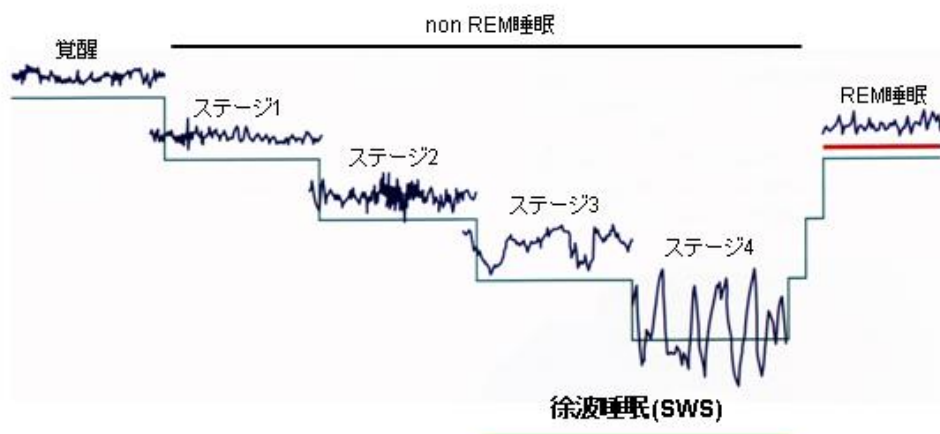
## <補足説明>

### ※1 抑制性シナプス伝達と興奮性シナプス伝達

神経細胞は、興奮性細胞と抑制性細胞の 2 種類に大別される。ある神経細胞が活動した時に、その細胞がシナプス結合した相手の神経細胞の活動を高めるように働くものを「興奮性細胞」、逆に相手の活動を抑えるように働く細胞を「抑制性細胞」と呼ぶ。それらの細胞が作るシナプスがそれぞれ「興奮性シナプス」、「抑制性シナプス」であり、そこでの伝達を「興奮性シナプス伝達」、「抑制性シナプス伝達」と呼ぶ。

### ※2 睡眠・覚醒に伴う脳波の波形変化

脳内の神経細胞集団の活動に伴う集合電位は、頭部に配した電極で記録することができ、これを「脳波」と呼ぶ。脳波は下図のように、睡眠・覚醒の状態により振幅や周波数が特徴的に変化する。また non REM 睡眠の内、振幅が大きく、ゆっくりとした脳波が観測されるステージ 3、4 を特に徐波睡眠 (Slow wave sleep: SWS) と呼ぶ。



睡眠・覚醒時に記録されるヒトの脳波

Hobson JA、(澤口俊之訳、2001) 意識と脳、日経サイエンス より改変

### ※3 膜電位と脱分極、過分極

神経細胞に限らず、一般に細胞の内側は外側に比べてマイナスに帯電している。その大きさは、細胞外をゼロ (基準) として $-40$  から $-70\text{mV}$  程度で、これを「静止膜電位」と呼ぶ。細胞内外が等電位ではない状態を電気化学の用語で「分極状態」と言う。神経細胞の膜電位が、何らかの原因で静止状態からゼロに近づく現象を、分極状態から脱するという意味で「脱分極」と呼び、逆にさらにマイナスの値が大きくなることを「過分極」と呼ぶ。神経細胞の膜は、脱分極するとナトリウムイオンに対する透過性が一過性に増大し、「活動電位」が発生する。活動電位が神経線維を伝わることで、その終末部のシナプスから伝達物質が放出し、次の神経細胞に信号が伝達する。

### ※4 GABA<sub>A</sub> 受容体と IPSP、IPSC

大脳皮質の抑制性シナプスでは、伝達物質として  $\gamma$  アミノ酪酸 (GABA) が使われている。シナプスの受け手側 (シナプス後細胞) には、GABA を受け取る「受容体」が存在し、送り手側 (シナプス前終末) から放出した GABA が結合すると、塩素イオンを通す穴が開き、受け手側に電位変化 (抑制性シナプス後電位、Inhibitory post synaptic potential: IPSP) が生じる。この時流れる電流が「抑制性シナプス後電流 (Inhibitory postsynaptic current: IPSC)。

## ※ 5 可塑性現象

脳の神経回路が外界からの刺激により結合性や反応性を変化させ、外部刺激を取り除いた後もその影響が長く残るような現象。例えば、海馬の神経線維に 1 秒程度高頻度刺激を加えると、その後にシナプス伝達効率が長期間増大する「長期増強」が生じる。これは、記憶の形成に対応するシナプスレベルの変化であると考えられている。

## ※ 6 出力細胞

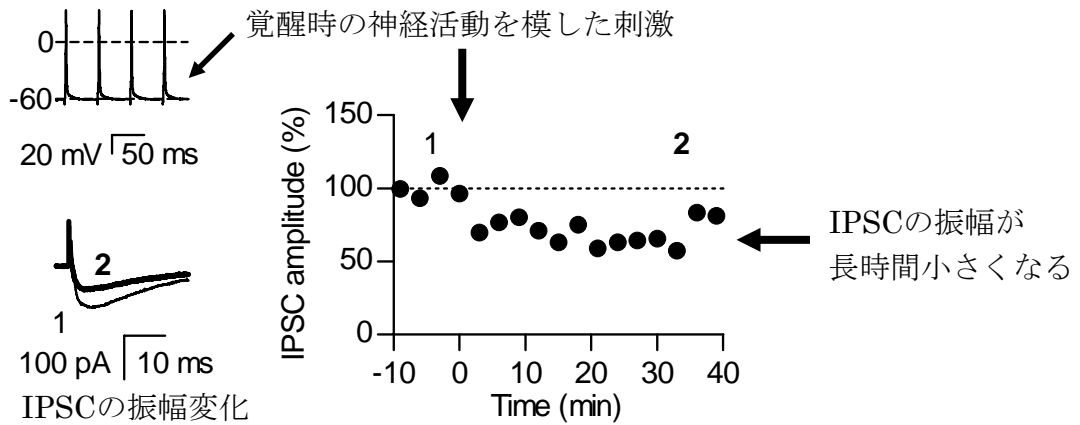
脳は外界からの刺激を感覚情報として受け取り、それに適切に応答しなければならない。刺激に対する脳からの応答の指令を末梢に送る経路「運動神経系」へ、最終的に指令を出す役割を担った神経細胞を出力細胞という。広義には、脳内の特定部位から脳の他の部位へ信号を送る細胞を出力細胞と呼ぶ。大脳皮質 5 層には、こうした出力を担う大型の「錐体細胞」が多数存在する。

## ※ 7 電位依存性カルシウムチャンネル

神経細胞の膜電位が脱分極することで開くイオンチャンネルのうち、カルシウムイオンを選択的に通すイオンチャンネルのこと。前述の  $GABA_A$  受容体も塩素イオンを通すイオンチャンネルだが、電位依存性はなく、GABA が結合することで開く「リガンド結合性イオンチャンネル」にあたる。

電位依存性カルシウムチャンネルには、電位変化に対する応答性の違いにより L、N、P、Q、R、T 型のサブタイプがある。それぞれのチャンネルには、個々の神経細胞での発現部位や密度に相違があり、異なる役割を果たしている。錐体細胞の細胞体部には、L 型と R 型が多く分布しているが、本研究でもそれらの機能の相違が明らかになった。

### A 抑制性シナプス伝達の長期抑圧



### B 抑制性シナプス伝達の長期増強

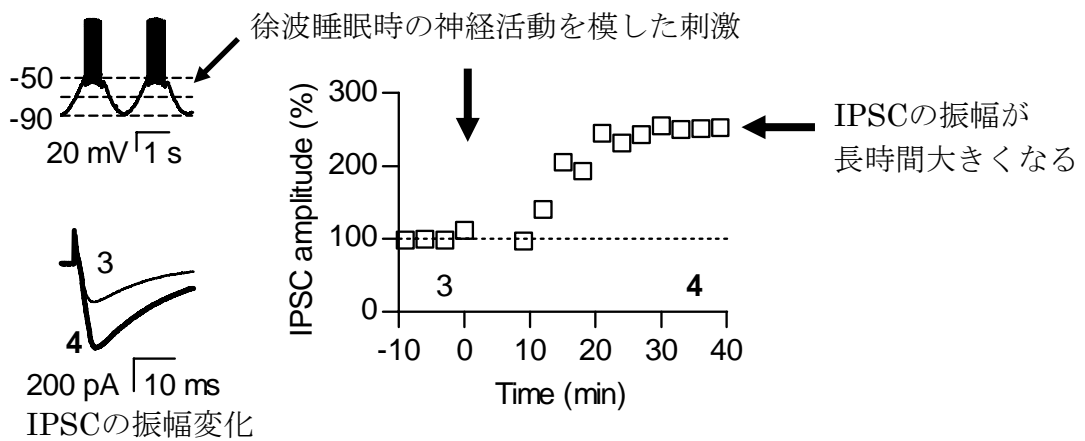


図1 大脳皮質錐体細胞の抑制性シナプス伝達の神経活動パターン依存性

- A: 覚醒時の活動パターンに似た電気刺激で、錐体細胞を20Hzで発火させると、その細胞への抑制性入力に長期的に減弱が生じる（長期抑圧）。
- B: 徐波睡眠時の活動パターンに似た電気刺激（0.5Hzでの膜電位振動＋発火）を与えると、抑制性入力に長期増強が生じる。

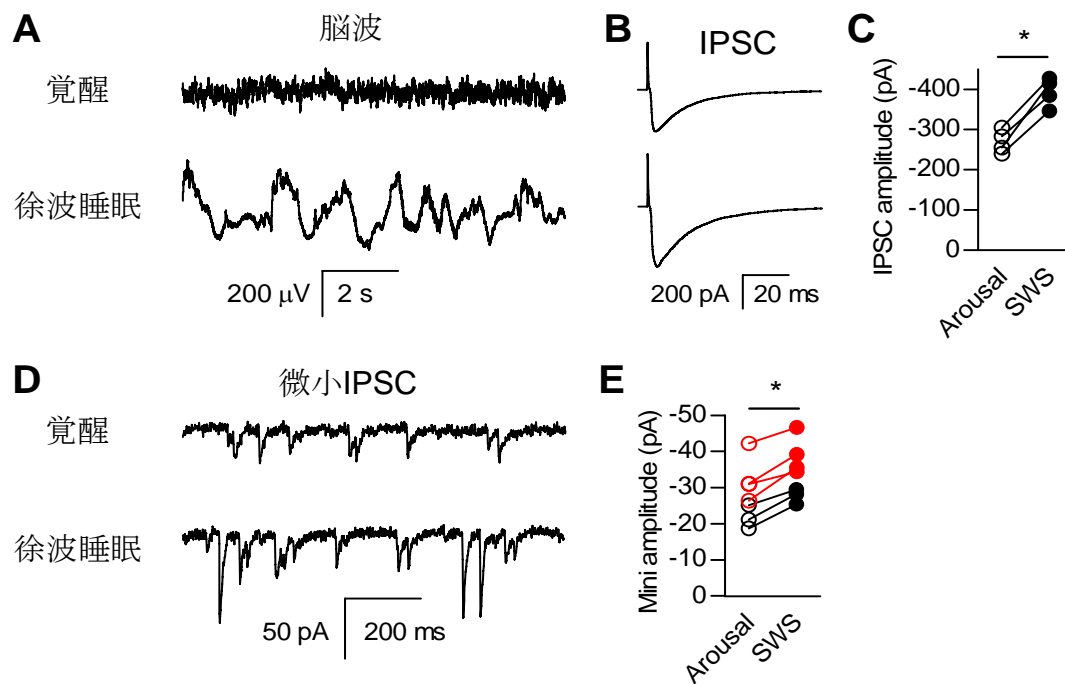


図2 覚醒・睡眠状態のラットから作製した脳切片標本でのIPSC  
および微小IPSCの振幅の比較

- A : 覚醒および徐波睡眠（Slow Wave Sleep : SWS）時のラットの脳波パターン。
- B : それに対応する切片標本から記録した、IPSCの平均波形。徐波睡眠時の方が振幅が大きいことに注意。
- C : 全4例の平均振幅の比較データ。全例で徐波睡眠時の方が振幅が有意に大きい。
- D : 同様に記録した微小IPSCの例。
- E : 全6例の平均振幅の比較データ。微小IPSCも全例で有意に徐波睡眠時の方が大きい。



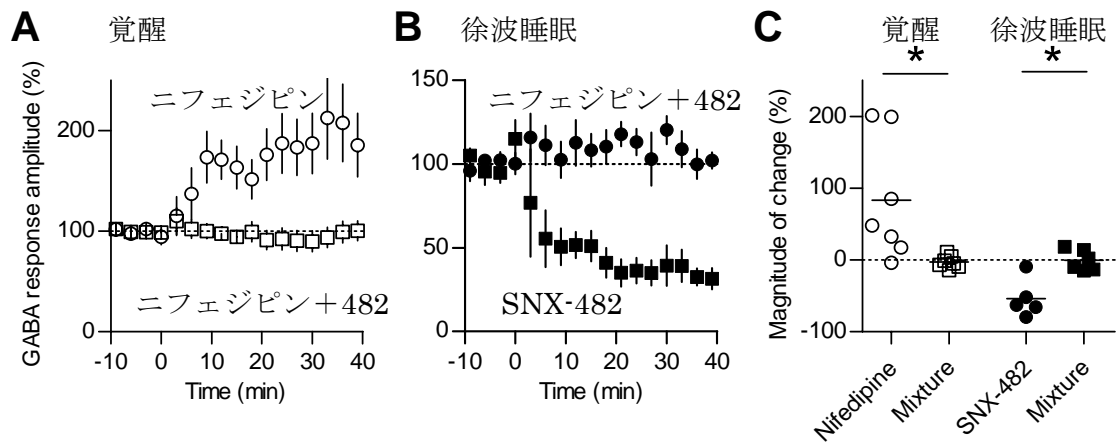


図3 L型、R型電位依存性カルシウムチャネルの寄与

- A : L型チャネルの特異的阻害剤「ニフェジピン」存在下で、覚醒タイプの活動パターンで錐体細胞を発火させると、長期抑圧ではなく長期増強が誘発される。
- B : R型チャネルの特異的阻害薬「SNX-482」を投与し、徐波睡眠タイプの活動パターンを与えると、長期増強ではなく、長期抑圧が生じる。
- A、Bともに、ニフェジピンとSNX-482を同時に投与した場合は、長期的変化は全く生じない。
- C : 個々の細胞で、どの程度反応が変化したかをまとめたヒストグラム。

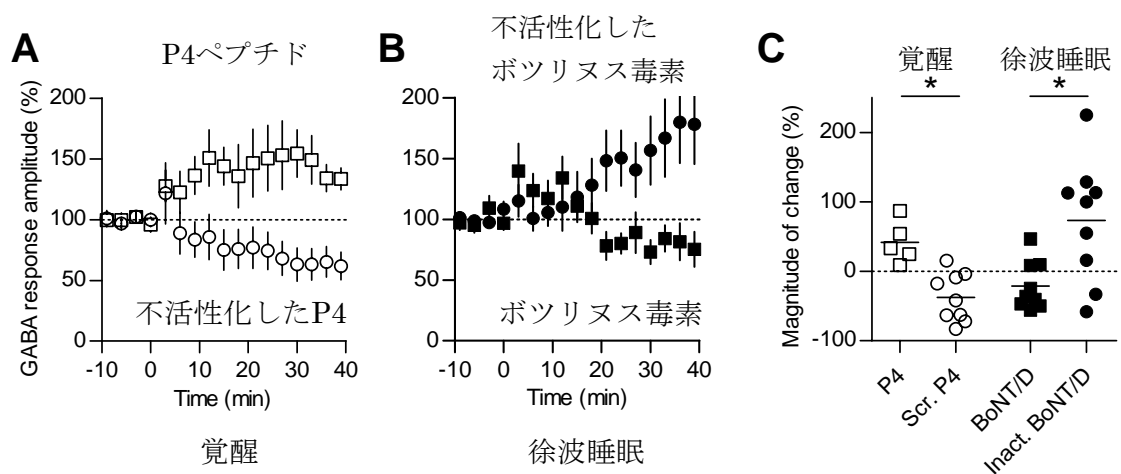


図4 GABA<sub>A</sub>受容体のシナプス後膜からの除去、あるいは挿入が関与する証拠

- A** : GABA<sub>A</sub>受容体取り込み過程の特異的阻害剤「P4ペプチド」存在下で、覚醒タイプの活動パターンで錐体細胞を発火させると、長期抑圧ではなく長期増強が誘発されるが、不活性型のP4では阻害効果が認められず、コントロール群と同様の長期抑圧が生じる。
- B** : GABA<sub>A</sub>受容体挿入の特異的阻害薬「ボツリヌス毒素」を投与し、徐波睡眠タイプの活動パターンを与えると、長期増強誘発が阻害される。不活性化したボツリヌス毒素は効果がなく、コントロール群と同様の長期増強が生じる。
- C** : 個々の細胞で、どの程度反応が変化したかをまとめたヒストグラム。

