

睡眠障害「ナルコレプシー」の新たなモデルマウス を作製し、病態の解明と治療薬開発に応用

名古屋大学環境医学研究所ストレス受容・応答研究部門 神経系分野Ⅱの研究グループ(山中章弘教授等)は SRI International の Kilduff 博士との共同研究によって、睡眠障害のひとつである「ナルコレプシー」の新たなモデルマウスの作製に成功し、新たな治療薬の作用を確認しました。日本でのナルコレプシーの有病率は 600 人に 1 人とされており、比較的身近な病気です。症状には、①日中の耐えがたい眠気、②睡眠覚醒の分断化、③入眠時幻覚、④情動脱力発作などがあります。ナルコレプシーの原因は、脳内の視床下部に存在し、神経ペプチドであるオレキシンを産生するオレキシン神経が何らかの原因により脱落することにあります。ナルコレプシーは、思春期または成人期初期に発症しやすいことが知られています。しかしながら、確定診断までに平均約 10 年かかっており、発症初期からの症状変化を調べることができませんでした。本研究では、任意のタイミングでオレキシン神経だけを除去できる、ヒトのナルコレプシーに近い新たなモデルマウスを作製し、残っているオレキシン神経細胞数とナルコレプシーの各症状発現との関係を調べました。その結果、約 85%のオレキシン神経が除去されると睡眠覚醒の分断化が現れ、約 95%のオレキシン神経が除去されると情動脱力発作が現れることを見いだしました。この新たなモデルマウスを用いて筋痙縮の治療に用いられている R-バクロフェンのナルコレプシーに対する治療効果を評価したところ、現在治療に使われている GHB(γ-ヒドロキシブチレート)よりも良い成績が得られたため、新たな治療薬として有望であることが分かった。

この研究成果は、2 報連続で 2014 年 5 月 7 日(英国時間)の The Journal of Neuroscience の電子ジャーナル『Published by the Society for Neuroscience』誌に掲載された。

睡眠障害「ナルコレプシー」の新たなモデルマウスを作製し、
病態の解明と治療薬開発に応用

【ポイント】

- オレキシン神経だけを任意のタイミングで除去できた。
- オレキシン神経の除去を任意のタイミングで止めることができるため、ヒトの様々なナルコレプシー症状を正確に再現できた。
- オレキシン神経の細胞数とナルコレプシー症状発症との関係を初めて明らかにした。
- 筋痙縮の治療薬がナルコレプシー治療薬として有効であることを見いだした。

【背景】

睡眠障害のひとつである「ナルコレプシー」は、2000 人に1人の有病率とされています。症状には、何をしても眠ってしまう日中の強い眠気、寝続けることができない睡眠覚醒の分断化、寝入りばなに夢を見るために現実世界と区別がつかない夢を見る入眠時幻覚、喜んだり笑ったりなどの情動変化により全身の筋肉が脱力して倒れる情動脱力発作などがあります。ナルコレプシーは、脳の中のオレキシンという神経ペプチドを産生する神経(オレキシン神経)だけが無くなってしまうことが原因で発症し、思春期または成人期初期に発症しやすいことが知られています。しかしながら、確定診断までに平均約10年かかっているために、発症初期からの症状変化を調べることができません。そのため、ナルコレプシーの研究にはモデル動物が用いられてきました。しかし、従来のモデル動物は生後まもなくオレキシン神経が消失するように遺伝子改変されたマウスであり、思春期または成人期初期に好発するヒトのナルコレプシーとは異なっていました。

【研究の内容】

本研究では、任意のタイミングで目的遺伝子の発現を制御できる遺伝子発現のスイッチを用いて、オレキシン神経だけで細胞死を起こさせました。遺伝子発現のスイッチをオンにするとオレキシン神経細胞だけで毒素(ジフテリア毒素 A 断片)の産生が始まり、オレキシン神経だけが死滅します。この遺伝子発現システムでは、遺伝子発現のスイッチをエサを代えることで制御しました。特殊エサを与えている状態では、スイッチが入らずにオレキシン神経は正常に保たれますが、普通エサにすると毒素の発現が誘導され、オレキシン神経が細胞死を開始します。そこで、この遺伝子改変マウスを10週齢まで特殊エサで飼育し、その後普通エサに置き換えて、オレキシン神経細胞死を誘導し、残存するオレキシン神経細胞数を観察しました。その結果、特殊エサを与えている状態では、オレキシン神経細胞数は全く正常でしたが、普通エサにエサを交換するだけでオレキシン神経細胞数が急速に減少していきました。このときの睡眠覚醒パターンを解析しました。すると、普通エサにして1週間後には85%以上のオレキシン神経細胞が死滅し、睡眠覚醒の分断化が始まりました。2週間後では95%のオレキシン神

経細胞が死滅し、このときに初めて情動脱力発作が現れることが明らかになりました。さらにオレキシン神経が 95%以上減少していくと、睡眠覚醒の分断化が著しくなり、情動脱力発作の頻度が上昇しました。

今回用いた遺伝子発現スイッチは、オンとオフが制御できます。つまり、オレキシン神経細胞死を任意のタイミングで止めることも可能です。

本研究で作製した新たな遺伝子改変マウスは、これまでのモデル動物と異なり、生後成長してからオレキシン神経の除去を開始できるため、思春期または成人期初期に好発するナルコレプシーを正確に再現していると言えます。また、ナルコレプシーでは、日中の強い眠気のみを呈す患者から脱力発作を起こす患者まで症状にばらつきがあります。今回作製した遺伝子改変マウスでは、任意のタイミングでオレキシン神経除去を開始・停止できるため、各患者の症状に近いマウスを作製することも可能となります。本研究により、これまで不可能であったオレキシン神経細胞数と症状発現との関係を初めて明らかにすることができました。この新たな遺伝子改変マウスは、現段階では最も優れたナルコレプシーモデルマウスであると言えます。

この新たなナルコレプシーモデルマウスを用いて、ナルコレプシー治療薬となりうる薬の治療効果を検討しました。現在筋痙縮の治療薬として用いられている R-バクロフェンと、既にナルコレプシーの治療薬として使われている GHB (γ -ヒドロキシブチレート)を投与しました。その結果、R-バクロフェンにより睡眠覚醒の分断化が改善され、情動脱力発作の回数が減少しました。R-バクロフェンは GHB よりも治療効果が高いことがわかりました。

【成果の意義】

ナルコレプシー発症の原因が、オレキシン神経の脱落であることは知られていました。しかし、オレキシン神経細胞数と発症との関係は不明でした。本研究により、任意のタイミングでオレキシン神経除去を制御できる新たなナルコレプシーモデルマウスを作製することに成功しました。これにより、オレキシン神経細胞数とナルコレプシー症状発症との関係を初めて明らかにすることができました。このナルコレプシーモデルマウスを用いて、筋痙縮の治療薬である R-バクロフェンがこれまでの治療薬よりも優れていることを見出しました。今後は、さまざまな症状を呈すマウスを作製し治療薬の開発をすることで、症状に個人差があるヒトのナルコレプシー治療に大いに貢献できると考えています。

本研究では、オレキシン神経の睡眠覚醒における役割に着目しましたが、オレキシン神経は不安行動や依存などにも深く関わっている神経です。今回作製したマウスを用いることで、オレキシン神経のさまざまな生理的役割を明らかにできると考えています。

【用語説明】

オレキシン: 神経ペプチドのひとつ。視床下部に存在する数少ない神経細胞において産生される。オレキシンを産生するオレキシン神経細胞は脳全体に軸索を投射し、オレキシンを

遊離する。オレキシンは覚醒の維持に重要な役割を担っている。

ナルコレプシー: 睡眠障害の病名のひとつ。日中の耐えがたい眠気、入眠時幻覚、情動脱力発作などが主な症状。オレキシン神経細胞がなんらかの原因によって、脱落することによって発症する。

ジフテリア毒素 A 断片: ジフテリア毒素の一部。A 断片はタンパク質合成を阻害して細胞死を誘導する。B 断片が細胞内に侵入するのを手助けする。A 断片だけでは発現細胞だけで細胞死を誘導し、周りの細胞に影響を与えることが無い。

【論文名】

“Conditional ablation of orexin/hypocretin neurons: A new mouse model for the study of narcolepsy and orexin system function”

Sawako Tabuchi, Tomomi Tsunematsu, Sarah Wurts Black, Makoto Tominaga, Megumi Maruyama, Kazuyo Takagi, Yasuhiko Minokoshi, Takeshi Sakurai, Thomas Kilduff, and Akihiro Yamanaka

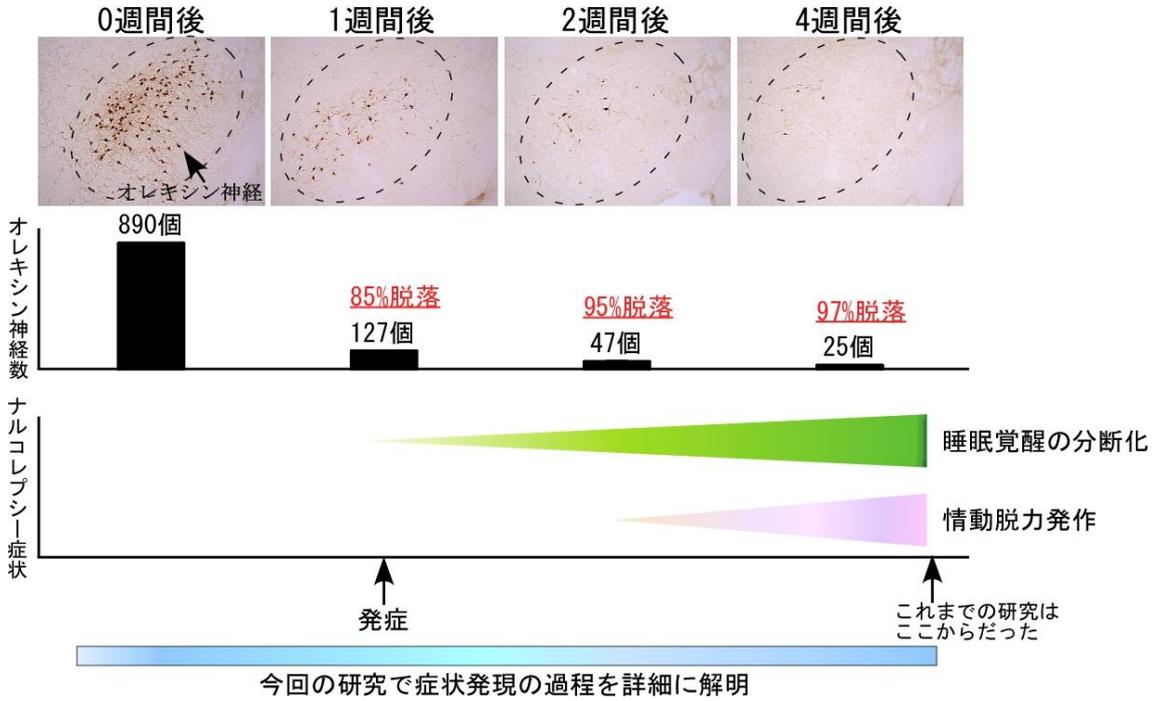
Journal of Neuroscience

“GABAB Agonism Promotes Sleep and Reduces Cataplexy in Murine Narcolepsy”

Sarah Wurts Black, Stephen R. Morairty, Tsui-Ming Chen, Andrew K. Leung, Jonathan P. Wisor, Akihiro Yamanaka, and Thomas S. Kilduff

Journal of Neuroscience

特殊エサから普通エサに置換してからの経過時間



チョコレートなどの美味しい食べ物を食べると、全身の力が抜ける脱力発作(ナルコレプシーの特有の発作)を起こす様子(イメージ図)

