

62. 睡眠不足が中枢神経系病態に与える影響の分子機構解析

村上 正晃

北海道大学 遺伝子病制御研究所 分子神経免疫学分野

Key words : ストレス, ゲートウェイ反射, 炎症回路, 多発性硬化症

緒言

ストレスが様々な病気に関連することは、「病は気から」という諺などから良く知られる。しかし、ストレスによる神経活性化と病気発症の具体的な因果関係、さらに、その詳細な分子機構は未だ解明されていない。今日、我々を取り巻く環境には、多くのストレスがあるが、睡眠はその影響を受けやすい生理的現象の1つであり、ストレス依存性の交感神経活性化にて睡眠が不安定化し、睡眠障害をきたす。一方、睡眠障害自体もストレスとなり過剰な神経活性化の原因となる。睡眠障害とそれを起点とする関連ストレスは、現代社会において、正常な神経ネットワークとは異質の“ストレス依存性の神経活性化”の増幅ネットワークを我々に形成して「何らかの機序」を介し、局所恒常性を破綻させて病気、病態に影響を与えることが考えられる。今回、この「何らかの機序」を局所神経の活性化制御不全とそれに引き続く血管機能の制御不全に依存する炎症誘導と仮定して研究を行い、特に睡眠障害が慢性炎症病態に与える影響の分子機構を明らかにすることを目的とする。

これまでに著者は、局所の神経活性化が近傍の血管系を制御してその場に免疫細胞の集積を引き起こし、炎症を誘導する機構を世界に先駆けて発見した。例えば、重力刺激→ヒラメ筋からの局所感覚神経活性化→交感神経活性化は、第5腰椎(L5)の背側血管にノルアドレナリン依存性に過剰なケモカイン発現を誘導した。ケモカインは免疫細胞を誘引し、血管に侵入口(ゲート)を形成するので、自己反応性T細胞がL5背側血管に集積し、中枢神経系に炎症性疾患を引き起こす¹⁾。さらに、第2の例として、痛みを介した神経活性化は、脳の前帯状回を介してL5の腹側血管という異なる部位に過剰なケモカイン発現を誘導した²⁾。このように、神経刺激の種類に応じてケモカインが大量に発現する血管の位置が規定され、炎症部位が変化することを示し、著者はこれを『ゲートウェイ反射』と名付けた。さらに、ゲートウェイ反射の分子基盤として、血管内皮細胞や線維芽細胞などの非免疫細胞でのケモカインの局所過剰産生を誘導する分子機構、『炎症回路』を同定した^{3, 4)}。炎症回路の活性化は、NF κ BとSTATの同時活性化で生じ、過剰なNF κ B刺激が導入され、ケモカインを含む標的遺伝子群が炎症局所で過剰発現する。ゲノムワイドスクリーニングを行い、炎症回路に必須の制御遺伝子、そして標的遺伝子をすでに同定している^{5, 6)}。

またこれまでに同定したNF κ BまたはSTATの活性化因子は、炎症性サイトカインのほか、EGF、FGFファミリーなどの増殖因子、そしてノルアドレナリンやATPなど神経伝達物質など複数があり、未知の分子の関連も示唆される。実際に、炎症回路の標的分子であるIL-6や増殖因子は、ヒトの関節リウマチおよび多発性硬化症患者の血清中で健常人血清よりも高値であること、また臨床検体の炎症部位では炎症回路に必須であるNF κ BとSTATの同時活性化が認められ、炎症回路がヒト慢性炎症疾患に関与する証拠が蓄積している⁷⁻⁹⁾。ゲートウェイ反射と炎症回路の具体的な関係としては、重力等の局所神経活性化の結果、その神経が機能的に接続している標的血管の内皮細胞で、神経伝達物質を介して炎症回路の活性化が増強するために、ケモカイン発現が促進し、ゲート形成が誘導されることが明らかになっている¹⁰⁾。本研究では、ゲートウェイ反射機構と炎症回路を基盤として、睡眠障害が慢性炎症病態に与える影響の分子機構を検討した。

方法および結果

中枢神経系の髄鞘を構成するミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク(MOG)の抗原ペプチドをアジュバントとともにC57BL/6マウスに免疫し、病態を呈するマウスからMOG特異的な自己反応性ヘルパーT細胞(病原性ヘルパ

ー T 細胞) を単離して、多発性硬化症モデルである移入 EAE を誘導した。この移入 EAE では、移入後 2 週程をピークに一過性の CNS 炎症病態が形成される。この病態は、重力によるヒラメ筋を介した感覚-交感神経活性化を介して病原性ヘルパー T 細胞が第 5 腰髄から中枢神経系に侵入することで誘導される (重力ゲートウェイ反射) ¹⁾。この移入 EAE モデルと睡眠障害モデルを組み合わせることによって睡眠障害が病態に与える影響を検討した。睡眠障害モデルは、自由回転する特殊ケージ内で約 2 週間飼育することで誘導した。その結果、移入型 EAE モデルにおいて、睡眠障害を起こすことにより臨床症状が劇的に悪化し、死亡する個体が多く認められ、そして通常は認められない脳の特
定血管部位に免疫細胞浸潤が観察された (図 1)。

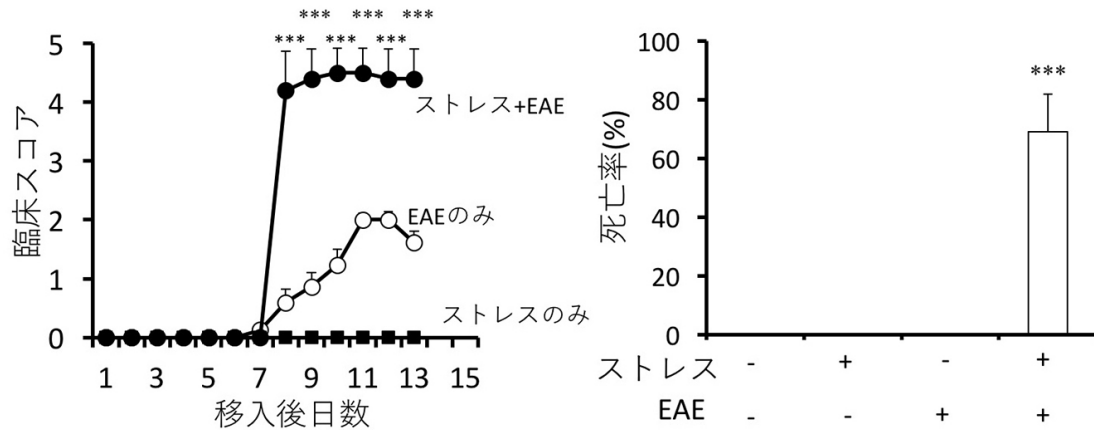


図 1. 睡眠障害ストレスによる EAE 病態の変化

EAE 臨床スコア (左) および死亡率 (右) を示す。統計処理は Student t-test によって行った。***P < 0.001.

この血管周囲の炎症によって通常は活性化していない神経回路が刺激され、ストレスを感知する脳の領域の活性化度が大きく増強された。これにより、移入 EAE モデルと睡眠障害モデルを組み合わせたマウスでは消化管出血が誘導された。重要なことに、移入 EAE モデルのみならず、この脳内の特定血管周囲に炎症回路を活性化させるサイトカインまたは自己反応性 T 細胞と樹状細胞を投与することで同様のストレスによる消化管出血および致死性が誘導された (図 2)。

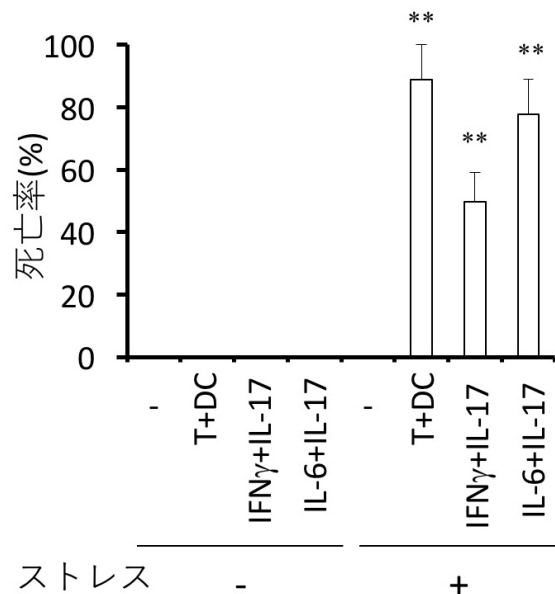


図2. サイトカインによるストレスゲートウェイ反射の誘導

自己反応性 T 細胞と樹状細胞 (T+DC) もしくはサイトカイン (IFN γ +IL-17 もしくは IL-6+IL-17 の組み合わせ) を脳内の特異的血管周囲に直接投与した場合の死亡率を示す。統計処理は Student's t-test によって行った。*P < 0.01。

このことは、ストレスゲートウェイ反射の存在を証明し、そして脳内での微小炎症が末梢臓器の機能に影響を及ぼすことを証明している。

考 察

睡眠障害により様々な病気、病態が増悪することが知られている。しかし、それに対する臨床での対応は、最終表現型の病気、病態に対する治療が主で、睡眠障害に対しては、生活習慣の改善や睡眠薬投与による対症療法であった。これは睡眠障害による病気、病態の誘導機構が不明なことが原因であると考えられる。本研究では我々自身の発見である「ゲートウェイ反射」に基づいて、睡眠障害を異質な神経ネットワークの形成とその過剰亢進として捉え解析を行った。その結果、定常状態のマウスとは異なり、睡眠障害マウスでは、自己反応性 T 細胞が脳内の特定部位の血管周囲に観察された。この脳内炎症によって、通常は作用していない神経回路が活性化し、末梢の多臓器機能が障害されることが分かった。脳内の微小炎症は、神経変性性疾患などでも認められることから、この「ストレスゲートウェイ反射」の発見は、臓器連関の理解に重要な意味をもつ。このことは、ストレスが臓器恒常性を破綻させるメカニズムを表しており、新たなストレス性臓器疾患の治療法開発に役立つと考えられる。

文 献

- 1) Arima Y, Harada M, Kamimura D, Park JH, Kawano F, Yull FE, Kawamoto T, Iwakura Y, Betz UA, Márquez G, Blackwell TS, Ohira Y, Hirano T, Murakami M. Regional neural activation defines a gateway for autoreactive T cells to cross the blood-brain barrier. *Cell*. 2012 Feb 3;148(3):447-57. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.022.
- 2) Arima Y, Kamimura D, Atsumi T, Harada M, Kawamoto T, Nishikawa N, Stofkova A, Ohki T, Higuchi K, Morimoto Y, Wieghofer P, Okada Y, Mori Y, Sakoda S, Saika S, Yoshioka Y, Komuro I, Yamashita T, Hirano T, Prinz M, Murakami M. A pain-mediated neural signal induces relapse in murine autoimmune encephalomyelitis, a multiple sclerosis model. *Elife*. 2015 Aug 11;4. doi: 10.7554/eLife.08733.
- 3) Murakami M, Okuyama Y, Ogura H, Asano S, Arima Y, Tsuruoka M, Harada M, Kanamoto M, Sawa Y, Iwakura Y, Takatsu K, Kamimura D, Hirano T. Local microbleeding facilitates IL-6- and IL-17-dependent

- arthritis in the absence of tissue antigen recognition by activated T cells. *J Exp Med*. 2011 Jan 17;208(1):103-14. doi: 10.1084/jem.20100900.
- 4) Atsumi T, Singh R, Sabharwal L, Bando H, Meng J, Arima Y, Yamada M, Harada M, Jiang JJ, Kamimura D, Ogura H, Hirano T, Murakami M. Inflammation amplifier, a new paradigm in cancer biology. *Cancer Res*. 2014 Jan 1;74(1):8-14. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2322.
 - 5) Murakami M, Harada M, Kamimura D, Ogura H, Okuyama Y, Kumai N, Okuyama A, Singh R, Jiang JJ, Atsumi T, Shiraya S, Nakatsuji Y, Kinoshita M, Kohsaka H, Nishida M, Sakoda S, Miyasaka N, Yamauchi-Takahara K, Hirano T. Disease-association analysis of an inflammation-related feedback loop. *Cell Rep*. 2013 Mar 28;3(3):946-59. doi: 10.1016/j.celrep.2013.01.028.
 - 6) Meng J, Jiang JJ, Atsumi T, Bando H, Okuyama Y, Sabharwal L, Nakagawa I, Higuchi H, Ota M, Okawara M, Ishitani R, Nureki O, Higo D, Arima Y, Ogura H, Kamimura D, Murakami M. Breakpoint Cluster Region-Mediated Inflammation Is Dependent on Casein Kinase II. *J Immunol*. 2016 Oct 15;197(8):3111-3119.
 - 7) Lee J, Nakagiri T, Kamimura D, Harada M, Oto T, Susaki Y, Shintani Y, Inoue M, Miyoshi S, Morii E, Hirano T, Murakami M, Okumura M. IL-6 amplifier activation in epithelial regions of bronchi after allogeneic lung transplantation. *Int Immunol*. 2013 May;25(5):319-32. doi: 10.1093/intimm/dxs158.
 - 8) Harada M, Kamimura D, Arima Y, Kohsaka H, Nakatsuji Y, Nishida M, Atsumi T, Meng J, Bando H, Singh R, Sabharwal L, Jiang JJ, Kumai N, Miyasaka N, Sakoda S, Yamauchi-Takahara K, Ogura H, Hirano T, Murakami M. Temporal expression of growth factors triggered by epiregulin regulates inflammation development. *J Immunol*. 2015 Feb 1;194(3):1039-46. doi: 10.4049/jimmunol.1400562.
 - 9) Nakagawa I, Kamimura D, Atsumi T, Arima Y, Murakami M. Role of Inflammation Amplifier-Induced Growth Factor Expression in the Development of Inflammatory Diseases. *Crit Rev Immunol*. 2015;35(5):365-78.
 - 10) Ohki T, Kamimura D, Arima Y, Murakami M. Gateway reflex, a new paradigm of neuro-immune interaction. *Clin Exp Neuroimmunol*. 2017;8:23-32. doi: 10.1111/cen3.12378