

140 脳深部光計測を用いた睡眠覚醒メカニズム解明	小野 大輔
---------------------------	-------

**【目的】** 睡眠・覚醒は約 24 時間ごとに繰り返される。この 24 時間周期のリズムを「概日リズム」と呼び、脳内視床下部の「視交叉上核」が概日時計の中核として生体機能の時間的統合を行う。また、概日リズムは“時計遺伝子”の発現を皮切りにその調節機構が明らかにされてきている一方で、神経回路レベルの調節機構の解明はほとんど進展がなく未だ仮説の域を出ない。本研究では、光操作と併用可能な発光イメージング技術を導入し、哺乳類の概日時計による睡眠覚醒調節メカニズムを神経回路レベルで明らかにする事を目的とする。

**【方法、結果】** 視交叉上核はほぼすべて抑制性神経である事から、視交叉上核特異的な *Vgat* 欠損を試みた。*Vgat<sup>flx/flx</sup>* マウスに AAV を用いて、視交叉上核特異的に Cre を発現させた。動物の自発行動を計測する為に、赤外線センサーを飼育ボックスの上部に設置し、1 分ごとの自発行動量を連続的に計測した。視交叉上核特異的 *Vgat* 欠損マウスは、暗期における行動量の低下、および活動開始時間のばらつきの増加がみられたが、フリーラン周期そのものには影響を与えなかった。これらの結果は、視交叉上核における GABA は概日時計の周期には影響を及ぼさないが、出力経路に影響を及ぼすことを示唆する。

次に視交叉上核からの出力領域を同定するため、*Gad67-Cre* マウスを用い視交叉上核特異的に GFP を発現させ、軸索終末を確認した。その結果複数の脳領域に視交叉上核の軸索が確認された。その中で最も密に軸索が確認された室傍核に着目した。視床下部室傍核神経は様々な神経ペプチドを発現する神経細胞である事が知られている。その中でコルチコトロピン放出因子 (CRF) 神経はストレス応答に関わる事から、睡眠覚醒の調節に関わるのではないかと考えた。そこで、*CRF-Cre* マウスを導入し、Cre 依存的に ChR2 を発現させる事が可能な AAV (AAV-CMV-flex-ChR2-EYFP) を室傍核 CRF 神経に発現させた。その後、光ファイバーを室傍核直上に挿入し、さらに脳波・筋電図を計測するための電極およびワイヤーを装着した。その結果、室傍核 CRF 神経の光操作により覚醒が誘導された。今後は視交叉上核から睡眠覚醒を調節する神経回路の全貌を明らかにする。

視交叉上核における GABA は概日リズムの出力に関与する

