

**【目的】** 生物の多くの生理現象は約 24 時間周期の概日リズムを持っている。哺乳類では環境光は眼球の網膜で受容され、脳視床下部の体内時計中枢である視交叉上核に伝達され、時計をリセットさせる。松果体のメラトニンもこの経路で合成分泌を制御され、ヒトでは睡眠ホルモンとして働く。日本人の 10 人に 4 人が何らかの不眠や睡眠障害を抱えていると言われ、睡眠障害のうち、非 24 時間睡眠覚醒症候群は、通入眠と覚醒の時刻が毎日 1~2 時間ずつ遅れ、睡眠覚醒リズムが 24 時間よりも長い周期を示す。原因として光感受性の低下が挙げられているが、その因果関係やメカニズムもわかっていない。我々のこれまでの研究で松果体を除去により光感受性が増加することが判明し、松果体メラトニンが光同調における光感受性に関与しているのではないかと考えられた。そこで、本研究では松果体メラトニンによる光感受性抑制機構の解明を目的とした。

**【方法】** 4~5 週齢雄のメラトニン産生 CBA/N マウスおよびメラトニン欠損 C57BL/6 マウスの松果体を除去 (PinX) 後、16 時間明期 8 時間暗期の明暗環境下で、暗期に 1 時間光照射し、活動量の抑制 (マスキング) 効果を解析した。メラトニン投与によるマスキングの抑制効果を検証した。メラトニンが作用する部位を検証するため、網膜変性 rd/rdCBA/J マウスを用いてマスキング効果を解析した。次に青色と緑色の LED を用いて PinX マウスによるマスキング効果を検証し、網膜内層の青色吸収する光受容体 *Opn4* の関与を確認した。さらに PinX およびメラトニン投与による *Opn4* 発現への影響を *in situ* hybridization 法およびウェスタンブロット法により検証した。最後に夜間薄明環境下 (12 時間明期 400 lux、12 時間暗期 5 lux : 12L12dL) で非 24 時間型睡眠障害様行動を示すマウスにおいて、メラトニン受容体アンタゴニストの慢性投与による改善効果を検証した。

**【結果】** CBA/N マウスにおいて、PinX によって増幅されていたマスキング効果は、メラトニン投与により低下した。C57BL/6 マウスでは PinX による影響はなく、メラトニンに光感受性が抑制されることが示唆された。網膜変性マウスでも PinX によってマスキング効果が増幅し、メラトニン投与により回復した。さらに青色光にのみ PinX によるマスキング効果増幅を示した。これらの発見は、メラトニンが網膜内層の *MT1* に作用して *Opn4* 発現細胞の光感受性を抑制している可能性を示唆している。そこで、網膜 *Opn4* 発現を解析したところ、PinX により発現量が増加しメラトニンにより抑制された。タンパク質レベルでも同様の結果であったことから、メラトニンが *Opn4* の発現量を抑制することを示唆した。しかし、*MT1* アンタゴニスト慢性投与では非 24 時間睡眠覚醒症候群様行動を回復させる効果が得られず、今後濃度検討や遺伝子改変によるさらなる検討が必要である。

松果体除去とメラトニン投与によるマスキング効果と網膜の *Opn4* 発現への影響

