

**【目的】**睡眠は生物に不可欠な本能行動の一つである。睡眠は量的に充分であるだけでなく睡眠・覚醒のタイミングも重要なファクターである。特に24時間型社会と呼ばれる現代社会では、概日リズム睡眠障害が社会的な問題であり、癌、メタボリックシンドロームや鬱病などの重篤な病気と深く連関する。位相決定に重要な役割を果たす概日時計の中枢は視床下部の視交叉上核 (SCN) に存在しており、個々の SCN 神経はそれぞれ細胞内に分子時計を内在する。個体においては SCN から他の脳領域に時刻情報を出力することで、睡眠リズムをはじめ様々な生理リズムが生み出されると考えられるが、SCN から行動に至る神経ネットワークの理解はほとんど進んでいない。本研究では、概日時計の中枢である視交叉上核 (SCN) を出発点として神経投射される細胞群の同定とその神経回路が生理リズムの基本である睡眠覚醒サイクル制御において果たす役割の解明を目指した。特に、SCN の中でも第三の神経群を形成しながらその機能がわかっていないガストリン放出ペプチド (GRP) 産生神経に注目し、GRP 神経の投射地図を作製するとともに概日リズム制御における生理的意義を明らかにした。

**【方法】***Grip* 遺伝子プロモーターに駆動される *Cre* リコンビナーゼを発現する *Cre* ドライバーマウスとアデノ随伴ウイルス (AAV) を用いて GRP 神経特異的な遺伝子操作を行った。GRP 神経を特異的に蛍光タンパク質でラベルし、その投射先マッピングを行った。さらに、GRP 神経特異的に破傷風毒素 (テタヌス毒素, TeNT) を発現させて、神経小胞を機能阻害したときの行動リズムへの影響を解析した。その際に SCN の時計遺伝子発現リズムを調べるために *PER2::LUC* マウスにおける発光モニターを行った。さらに、赤色ルシフェラーゼである *AkaLuc* を用いて自由行動下のマウスにおける脳深部の発光を観察することで、*in vivo* で神経活動を測定する実験系を立ち上げた。

**【結果】***Grip-iCre* ノックインマウスの SCN に ChR2-EYFP またはシナプトファイジン-GFP を発現する AAV を投与することにより、神経細胞の軸索を蛍光ラベルした。その結果、SCN の GRP 神経は視床下部の視索前野 (POA)、視床室傍核 (PVT)、室傍核下部領域 (SPVZ)、視床下部室傍 (PVH)、核視床下部背内側核 (DMH) に密な投射をしている一方、視床下部腹内側核 (VMH) には投射しないことが判明した。さらに、TeNT を発現させたマウスにおいては行動リズムが大きく減弱することが明らかになった (図)。さらにそのときの SCN の *PER2::LUC* の発現リズムも大きく減弱していた。神経活動のイメージングに関しては、SCN のような脳深部でも完全な非侵襲系でルシフェラーゼの発光を検出することが可能であった。今後、基質の連続投与の条件を確定させて GRP 神経における神経活動リズムを観察する予定である。

TeNT を用いて GRP 神経を抑制したときのマウス行動リズム

