

図6. メラトニン1A受容体蛋白の構造及びアミノ酸置換の位置

65名の概日リズム障害患者及び67名の正常コントロール群を対象に、それぞれの変異の保有率を調べた。非24時間睡眠覚醒症候群では、正常コントロール群に比べ、約3倍の頻度でR54W変異を保有していたが、症例数が少ないこともあり、有意差を示すには至らなかった ( $P=0.162$ , Fisher's exact test, two-tailed)。 (表1)

## 2) メラトニン1B受容体

メラトニン1B受容体遺伝子についても解析を行ったところ、24番目のグリシンがグルタミン酸に変わるG24E変異、66番目のロイシンがフェニルアラニンに変わるL66F変異の2種類のミスセンス変異が発見された。両変異ともに疾患との関連は見出されなかった。興味深いことに、非24時間睡眠覚醒症候群の一例が1A受容体A157V変異及び1B受容体G24E変異の双方を保有していた (表1)。

|            | 非24時間睡眠覚醒症候群                 | 睡眠相後退症候群     | 正常コントロール群    |
|------------|------------------------------|--------------|--------------|
| メラトニン1a受容体 |                              |              |              |
| R54W       | 3/22 (0.14)                  | 2/43 (0.047) | 3/67 (0.045) |
| A157V      | 1+ <sup>#</sup> 1/22 (0.091) | 2/43 (0.047) | 3/67 (0.045) |
| メラトニン1b受容体 |                              |              |              |
| G24E       | <sup>#</sup> 1/22 (0.045)    | 0/43 (0)     | 2/67 (0.030) |
| L66F       | 0/22 (0)                     | 0/43 (0)     | 1/67 (0.015) |

表1. メラトニン1A,1B受容体遺伝子のミスセンス変異及びその保有者の疾患別分布

( )内の数字は変異を保有する被検者の割合。

#印は同じ症例。

### 3) 受容体発現実験

1A受容体の54番目のアミノ酸であるアルギニンは、現在までに報告された全メラトニン受容体遺伝子（ニワトリやヒツジなど他の動物種から単離されたものも含む）で共通

して用いられているアミノ酸だった（図7）。

また、第一細胞内ループ領域の変異は受容体の特性に変化を与えるという研究結果があり、R54W変異がメラトニン受容体の性質に変化をもたらしている可能性は高いと考えられた。

|                |    |                 |                   |    |
|----------------|----|-----------------|-------------------|----|
| Human Mella    | 41 | DILGNLLVILSVYR  | NKKLRNAGNIFVVSLA  | 70 |
| Human Mel1b    | 54 | DVVGNLLVILSVIR  | NRKLRNAGNLFVLSLA  | 83 |
| Ovine Mella    | 57 | DIVGNLLVVLVSVYR | NKKLRNAGNVFVVSLA  | 86 |
| Mouse Mella    | 44 | DILGNLLVILSVYR  | NKKLRNSGNIFVVSLA  | 73 |
| Phodopus Mella | 44 | DILGNLLVILSVYR  | NKKLRNAGNIFVVSLA  | 73 |
| Chick Mella    | 44 | DLGNLLVILSVYR   | NKKLRNAGNIFVVSLA  | 73 |
| Chick Mel1c    | 38 | DVLGNALVILSVIR  | NKKLRNAGNIFVVSLA  | 67 |
| Xenopus Mel1c  | 46 | DVLGNILVILSVIR  | NKKLQNAGNLFVVSLA  | 75 |
| Human Mel-rel  | 42 | DLIGNSMVILAVTKN | NKKLRNSGNIFVVSLA  | 71 |
| Ovine Mel-rel  | 42 | DLIGNSMVILAVSKN | NKKLRNSGNIFVVSLA  | 71 |
| Mouse Mel-rel  | 50 | DLIGNSMVILAVTKN | NKKLRNSGNIFVAVSLA | 79 |

図7：異なる動物種から単離された、様々なメラトニン受容体サブタイプ間でのアミノ

#### 酸配列の比較

四角で囲んだRは、ヒトメラトニン1A受容体のR54に相当するアミノ酸を示す。「Mel-rel」は、まだリガンドが判明していないが、メラトニン受容体と構造が類似の「メラトニン関連受容体」を示す。

そこで、それぞれの変異を導入した受容体cDNAを発現ベクターに挿入し、培養細胞

に発現させてから  $^{125}\text{I}$ -melatonin を用いて受容体結合実験を行った。

表2に Scatchard 解析の結果を示す。1A 受容体 R54W 変異の発現量 (Bmax) は野生型に比べて約3分の1に減少し、 $^{125}\text{I}$ -melatonin に対する親和性が増加 (Kd 値が減少) する傾向

にあった。

1B 受容体の L66F 変異では、 $^{125}\text{I}$ -melatonin に対する親和性 (Kd 値) は野生型と比べてほぼ等しいが、受容体の発現量 (Bmax 値) が減少する傾向が認められた。

| Mutant     | 125I-Mel binding |            | Melatonin competition |
|------------|------------------|------------|-----------------------|
|            | Bmax (pmol/mg)   | Kd (pM)    | Ki (pM)               |
| メラトニン1A受容体 |                  |            |                       |
| Wild type  | 1.42 ± 0.10      | 24.7 ± 2.1 | 348 ± 22              |
| R54W 変異    | 0.44 ± 0.04      | 15.7 ± 1.3 | 173 ± 4               |
| A157V 変異   | 1.37 ± 0.06      | 27.9 ± 2.4 | 498 ± 16              |
| メラトニン1B受容体 |                  |            |                       |
| Wild type  | 0.20 ± 0.02      | 68.3 ± 2.1 | 238 ± 5               |
| G24E 変異    | 0.21 ± 0.02      | 64.4 ± 6.8 | 225 ± 23              |
| L66F 変異    | 0.14 ± 0.04      | 66.4 ± 1.8 | 228 ± 19              |

表2：野生型及び変異を導入したヒトメラトニン 1A, 1B 受容体の結合特性の比較

#### 4) ヒト *period3* 遺伝子

ヒト *period3* 遺伝子からは合計6個のミスセンス変異を見出し、うち3個については疾患別の分布を調べ終えた。Type1 変異は、

正常コントロールに比べ、非24時間睡眠覚醒症候群で約2.3倍の頻度で見出された (P=0.041, Fisher's exact test, two-tailed) (表3)。

|         | 非24時間睡眠覚醒症候群             | 睡眠相後退症候群     | 正常コントロール群    |
|---------|--------------------------|--------------|--------------|
| Type1変異 | 9/23 (0.39)<br>* P=0.042 | 7/45 (0.16)  | 14/83 (0.17) |
| Type2変異 | 0/23 (0)                 | 1/45 (0.022) | 0/83 (0)     |
| Type3変異 | 6/23 (0.26)              | 15/45 (0.33) | 28/83 (0.34) |

表3. ヒト *period3* 遺伝子のミスセンス変異及びその保有者の疾患別分布

( ) 内の数値は変異を持つ被検者の割合

\* Fisher's exact test, two-tailed

#### 5) 結果のまとめ

(a) 65 例の概日リズム障害患者及び 67 名の正常コントロール群からメラトニン 1A 受容体について 2 種類、1B 受容体について 2 種類、計 4 種類のミスセンス変異を見出した。

(b) 非 24 時間睡眠覚醒症候群 22 名のうち 3 名がメラトニン 1A 受容体の R54W 変異を持っていた。正常コントロール群 (67 名のうち 3 名) と比較して約 3 倍の頻度だった。

(c) 非 24 時間睡眠覚醒症候群のうち 1 名は、メラトニン 1A 受容体 A157V 変異及び 1B 受容体 G24E 変異の双方を保有していた。

(d) 1A 受容体 R54W 変異は、培養細胞で発現させると正常型に比べて発現量が少なく、<sup>125</sup>I-melatonin に対する親和性が高い傾向にあった。1B 受容体 L66F 変異では、親和性は大きく変化しないが、発現量が減少する傾向が認められた。

(e) ヒト *period 3* 遺伝子から計 6 個のミスセンス変異を見つけた。うち一つは正常コントロール群と比較し、非 24 時間睡眠覚醒症候群で 2.3 倍の頻度で見出された。

#### D. 考察

メラトニンの生合成は生体時計にコントロールされて日周リズムを示すが、逆に外部から投与すると生体時計に作用し、概日リズムの位相を変化させる (生体時計の針を進める) ことが知られており、概日リズム周期を維持する際のフィードバック制御の役割を果たしていると考えられている。また、ラッ

トやマウスでは、メラトニンを産生しない個体の方が産生する個体よりも概日リズムの位相が変化しやすいという報告があり、メラトニンはそのフィードバック効果により概日リズム周期の安定化に寄与している可能性がある。従って、受容体の性質に大きな変化をもたらす 1A 受容体 R54W 変異は、メラトニンを介した概日リズムのフィードバック制御に影響し、非 24 時間睡眠覚醒症候群の発症に関与している可能性が高い。正常コントロール群の中にも、非 24 時間睡眠覚醒症候群に比べると約 3 分の 1 の頻度ではあるが同変異を持つ人が存在する。睡眠覚醒リズムには、朝型・夜型などの個体差があることが知られているが、同変異が正常群の生活リズムにも影響を及ぼしているのか、今後の課題である。

メラトニン 1A 受容体のノックアウトマウス及びメラトニン 1B 受容体が先天的に発現していないハムスターを対象とした研究により、メラトニン 1A 受容体と 1B 受容体とは相補的に働いていると考えられている。今回 1A・1B 受容体の双方に変異を持つ非 24 時間睡眠覚醒症候群の一例が見出されている。1A 受容体と 1B 受容体が相補的に働いていることを考えると、当該症例に関してはこの変異の組合せが発症要因となっている可能性がある。

ヒト *period 3* 遺伝子はショウジョウバエの *period* 遺伝子の homolog であり、視交叉上核に日周リズムを示して発現している。光を照射した場合、*period 1* 及び *period 2* の

messenger RNA は速やかに量が増えるのに対し、*period3* の messenger RNA は大きく反応しない。また、進化の系統樹でも *period3* 遺伝子は *period 1, period 2* とは異なった位置にあり、*period* 遺伝子の中でも他の二つとは異なる特徴ある位置を占めている。このヒト *period 3* 遺伝子についても6つのミスセンス変異を見出し、そのうち少なくとも一つ (Type1 変異) は非24時間睡眠覚醒症候群に多く見られることを示した。既述したようにショウジョウバエでは *period* 遺伝子の変異が概日リズムの異常を引き起こし、マウスでも *period2* 遺伝子をノックアウトすると概日リズムの異常を生じることが報告されている。従ってヒト *period3* 遺伝子の Type1 変異も概日リズム障害の発症因子になっている可能性がある。

今回変異が見出されたのは概日リズム障害患者のごく一部に過ぎない。また、1A 受容体の R54W 変異、ヒト *period3* 遺伝子の Type1 変異のいずれも正常コントロール群にも存在する。「睡眠相後退症候群」、あるいは「非24時間睡眠覚醒症候群」と診断されている患者群の中に複数の原因によるものが存在する (heterogenous な疾患である) こと、並びに疾患の発症には複数の要因が必要であることを示唆していると思われる。また、朝型、夜型のヒトが存在するように、生活リズムのパターンには個人差がある。正常コントロール群に認められる変異は、この個人差に関与しているのかもしれない。

我々は現在他の時計遺伝子についても

次々に変異解析を進めており、それぞれ複数の変異を見出している。概日リズムは藍色細菌など下等生物からヒトを含む高等動物まで認められる、進化の過程で強く保存されてきた生理現象であり、脳機能の中では比較的単純な機構を持つ。概日リズム形成に関わる遺伝子の数は限られていると考えられており、全ての生体時計関連遺伝子に関して変異の有無を調べあげていくことが、物理的に可能である。全時計遺伝子に関して変異を検出し、各被検者に関して変異マップを作製することで、複数の要因が関与する概日リズム障害の全体像を把握することができると考えられる。そうすれば各症例ごとに異なる病因に合った治療法・生活上の注意点を提言することができる。また、正常人に関しても遺伝子を解析することでその人固有の概日リズムを知り、それにあつた無理のない生活リズムを知ることができるようになると期待される。

これら一連の研究は、概日リズム障害と同様に heterogenous で複数の遺伝子が関与すると考えられる、分裂病や躁うつ病など、更に複雑な精神疾患の解析の進め方について戦略を立てる際のモデルケースとしても役立つと思われる。

この研究は多施設共同研究であり、多くの研究者の協力のもとに行われている。以下に参加各施設及び研究者のリストを掲載する。

埼玉医科大学精神医学教室

杉下真理子、岩瀬利郎、豊嶋良一、  
山内俊雄  
同・第一生理学教室  
池田正明  
国立精神神経センター  
高橋清久  
同・武蔵病院  
梶村尚史、加藤昌明、関本正規、渡辺剛  
同・精神保健研究所精神生理部  
内山真、渋谷佳代、大川匡子  
同・国府台病院  
亀井雄一、工藤吉尚  
熊本大学小児発達学教室  
上土井貴子  
東京女子医科大学精神医学教室  
金圭子  
滋賀医科大学精神医学教室  
尾関祐二、山田尚登  
鳥取大学医学部精神医学教室（現順天堂大学  
医学部精神医学教室）  
井上雄一  
通産省工業技術院・生命研  
石田直理雄  
かずさ DNA 研究所  
長瀬隆弘

## E. 結論

65名の概日リズム障害患者及び67名の正常群についてメラトニン受容体遺伝子を解析し、非24時間睡眠覚醒症候群発症の原因の一つと思われる変異を見出した。また、68名の

概日リズム障害患者及び83名の正常群を対象にヒト *period 3* 遺伝子を解析し、睡眠相後退症候群との相関が疑われる変異を少なくとも一つ見出した。今後も全時計遺伝子の変異解析を続け、概日リズムと遺伝子変異との相関の全貌を明らかにする予定である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) 海老澤尚 (2000)、睡眠覚醒リズム障害と遺伝子変異、自律神経 (印刷中)
- (2) 海老澤尚 (2000)、概日リズム障害と遺伝子変異、脳と精神の医学 (印刷中)
- (3) 山内俊雄、海老澤尚(2000)、生物学的精神医学研究の限界と将来、精神医学, vol. 42, 263-271.
- (4) Takashi Ebisawa, Makoto Uchiyama, Naofumi Kajimura, Yuichi Kamei, Kayo Shibui, Keiko Kim, Yoshinao Kudo, Toshio Iwase, Mariko Sugishita, Takako Jodoi, Masaaki Ikeda, Yuji Ozeki, Tsuyoshi Watanabe, Masanori Sekimoto, Masaaki Katoh, Naoto Yamada, Ryoichi Toyoshima, Masako Okawa, Kiyohisa Takahashi, Toshio Yamauchi. (2000) Genetic polymorphisms of human melatonin 1b receptor gene in circadian rhythm sleep disorders and controls. *Neurosci. Lett.*, 280, 29-32.
- (5) Takashi Ebisawa, Naofumi Kajimura, Makoto Uchiyama, Masaaki Katoh, Masanori Sekimoto, Tsuyoshi Watanabe, Yuji Ozeki, Masaaki Ikeda, Takako Jodoi, Mariko Sugishita, Toshio Iwase, Yuichi Kamei, Keiko Kim, Kayo Shibui, Yoshinao

Kudo, Naoto Yamada, Ryoichi Toyoshima, Masako Okawa, Kiyohisa Takahashi, and Toshio Yamauchi. (1999) Allelic variants of human melatonin 1a receptor: function and prevalence in subjects with circadian rhythm sleep disorders. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 262, 832-837.

(6) Wangjie Yu, Masaaki Ikeda, Hiroshi Abe, Sato Honma, Takashi Ebisawa, Toshio Yamauchi, Ken-ichi Honma, and Masahiko Nomura. (1999) Characterization of three splice variants and genomic organization of the mouse BMAL1 gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 260, 760-767.

(7) 海老沢尚 (1999) メラトニンと生体リズムの遺伝子機構、*Molecular Medicine* Vol.36, 1150-1159.

(8) 海老沢尚 (1999) サーカディアンリズム異常の分子生物学、*医学のあゆみ* Vol.190, 281.

(9) 海老沢尚 (1999) 概日リズム障害と遺伝子変異、*日本時間生物学会会誌* Vol.5, 49-51.

(10) 海老沢尚、梶村尚史、内山真、加藤昌明、関本正規、渡辺剛、池田正明、上土井貴子、杉下真理子、亀井雄一、金圭子、渋井佳代、工藤吉尚、大川匡子、高橋清久、山内俊雄 (1999) 概日リズム障害を呈する疾患における生体時計遺伝子の変異の探索、*精神薬療基金研究年報*、第31集、261-266.

(11) 海老沢尚、梶村尚史、内山真、加藤昌明、関本正規、渡辺剛、池田正明、上土井貴子、杉下真理子、亀井雄一、金圭子、渋井佳代、工藤吉尚、大川匡子、高橋清久、山内俊雄 (1998) リズム障害疾患におけるメラトニン受容体遺

伝子の変異の解析、*精神薬療基金研究年報*、第29集、245-251.

## 2. 学会発表

- (1) 海老沢尚(2000) 睡眠覚醒リズム障害と時計遺伝子、第35回脳のシンポジウム「生物時間の分子細胞機構—脳機能の時間統合メカニズム」
- (2) 海老沢尚(2000) 概日リズムとメラトニン—受容体発見の経緯とその後の展開—、三重精神医学会
- (3) 海老沢尚(1999) 睡眠覚醒リズム障害とメラトニン受容体遺伝子、ワークショップ「概日リズムの分子機構：時計遺伝子の機能～若手の会～」
- (4) 海老沢尚 (1999) 概日リズム障害と生体時計関連遺伝子、平成11年度厚生省精神・神経疾患研究委託費研究報告会
- (5) 海老沢尚 (1999)、睡眠覚醒リズム障害と遺伝子変異、第52回日本自律神経学会総会シンポジウム「サーカディアンリズムの神経化学機構」
- (6) 海老沢尚 (1999) 睡眠覚醒異常のゲノム解析、国際生物分子時計仙台シンポジウム
- (7) 海老沢尚、梶村尚史、内山真、加藤昌明、関本正規、渡辺剛、尾関祐二、池田正明、上土井貴子、杉下真理子、岩瀬利郎、亀井雄一、金圭子、渋井佳代、工藤吉尚、山田尚登、大川匡子、高橋清久、山内俊雄、(1999) ヒトメラトニン受容体の変異と概日リズム障害、第6回日本時間生物学会学術大会
- (8) 海老沢尚 (1999) 生体リズム障害の分子生

物学、第29回日本脳波筋電図学会学術大会シンポジウム「睡眠・生体リズム障害研究の進歩：臨床生理学から分子生物学まで」

(9) Takashi Ebisawa (1999) Analysis of gene mutations in circadian-based sleep-wake disorders, U.S.-Japan Seminar on Molecular Mechanism of Biological Rhythms

(10) 海老沢尚 (1999) 概日リズム障害と遺伝子変異、第21回日本生物学的精神医学会若手ブレシンポジウム「精神医学への神経科学的アプローチ—遺伝子解析から高次脳機能評価まで—」

(11) 海老沢尚 (1998) リズム障害への分子時間生物学的アプローチ、第5回日本時間生物学会学術大会シンポジウム「時間生物学の医学・医療への応用」

(12) 海老沢尚 (1998) 睡眠覚醒リズム障害と遺伝子変異、第21回日本神経科学・第41回日本神経化学合同大会シンポジウム「精神疾患の分子メカニズム」

(13) 海老沢尚 (1998) 概日リズム障害と遺伝子変異、平成10年度厚生省精神・神経疾患研究委託費研究報告会

(14) 海老沢尚、梶村尚史、内山真、加藤昌明、関本正規、渡辺剛、池田正明、上土井貴子、杉下真理子、亀井雄一、金圭子、渋井佳代、工藤吉尚、大川匡子、高橋清久、山内俊雄 (1998) リズム障害疾患におけるメラトニン 1A、1B 受容体遺伝子の変異の解析、第20回日本生物学的精神医学会

(15) 海老沢尚、梶村尚史、池田正明、上土井貴子、杉下真理子、加藤昌明、関本正規、渡辺

剛、高橋清久、山内俊雄 (1997) リズム障害疾患におけるメラトニン受容体遺伝子の変異の解析、第4回日本時間生物学会学術大会

(16) 海老沢尚 (1997) 概日リズム障害を伴う疾患の遺伝子解析、平成9年度厚生省精神・神経疾患研究委託費研究報告会

### 3. 分担執筆

(1) 海老沢尚 (1999) メラトニン受容体 (「生物時計の分子生物学」海老原史樹文他編、シュプリンガー・フェアラーク東京)

(2) 海老沢尚 (1998) PCR-SSCP 法—シークエンサーを用いて (脱アイソトープ実戦プロトコール「2. キット簡単編」、秀潤社)、109-115頁.



# 健常人における朝型・夜型傾向と、睡眠習慣、概日性睡眠傾向リズムおよびメラトニンリズムの関連

分担研究者 亀井雄一  
研究協力者 早川達郎、工藤吉尚、浦田重治郎  
国立精神・神経センター国府台病院精神科

## 研究要旨

朝型-夜型という言葉は、私たちの日常生活の中で身近に使われている。その背景に何らかの生体リズムに違いがあるのではないかということは多くの研究結果から予測されてきたのだが、実際に統制された条件下の実験でその違いの機構を明らかにした報告は少ない。今回我々は健常成人 33 人を対象とし、朝型-夜型の判別手段として開発された朝型-夜型質問紙 (MEQ) により朝型・夜型傾向を評価した上で、統制条件下で 24 時間のメラトニンリズムを測定し、同時に睡眠・覚醒リズムの指標として超短時間睡眠・覚醒スケジュール法 (10 分-20 分法) による 1 日の睡眠傾向の変化を客観的に測定した。測定値からメラトニンピーク時刻、習慣的睡眠開始および終了時刻、習慣的睡眠時間、睡眠傾向上昇開始時刻について、MEQ との相関係数を算出して検討した。さらに、MEQ の得点を用いて対象 33 例を朝型・中間型・夜型の 3 つのグループに分類した。その 3 群の間のメラトニンピーク時刻および睡眠傾向上昇開始時刻から各個人の睡眠の中点までの間隔を比較検討した。その結果、朝型ほど睡眠時間帯、メラトニンピーク時刻、統制条件下での夜間睡眠開始時刻が早い時期に位置していた。また、3 群の睡眠の時間帯を一致させたところ、朝型は中間型・夜型に比べてメラトニンピーク時刻や睡眠傾向上昇開始時刻からみた睡眠開始時刻が早い時期に起こっていることが分かった。これより、朝型はメラトニンや睡眠傾向のリズムの位相が明暗サイクルに対して早くなりやすく、もともと生物学的に早い時間帯に睡眠をとる傾向があると考えられる。朝型は社会的制約のためにこれよりも多少睡眠の時間帯を遅らせて生活しているのに対し、夜型は睡眠のタイミングと社会生活上の就寝・起床時刻が比較的一致している可能性が示唆された。これらの検討から、朝型-夜型の違いは、メラトニンリズムやこれに関連した睡眠傾向のリズムに表現される生物学的な体質、あるいは素因の違いに基づくものと考えられる。

## A. 研究目的

朝型 - 夜型 (morning and evening types, または lark and owls) という用語は古くから使われており、日常生活においても多用されている。一般に、早寝早起きで心身活動のピークが 1 日の早い時期にあるものを朝型と呼び、宵っぱりの朝寝坊で心身活動のピークが 1 日の遅い時期にあるものを夜

型と呼ぶ。こうした朝型-夜型の特徴を調べるために、Horne と Ostberg<sup>1)</sup> は 19 の具体的質問により朝型-夜型の傾向を抽出する朝型-夜型質問紙(MEQ)を開発した。これまでも、朝型-夜型についてこの朝型-夜型質問紙を用いた研究がなされており、睡眠・覚醒リズムを含む行動パターンの個人差として朝型-夜型はとらえられている。

こうした検討からは、朝型と夜型では、睡眠パターンが異なることが多く報告されている。睡眠・覚醒リズムのパターンとしては、朝型では夜型に比べて就寝時刻が 1~1.5 時間、起床時刻が 0.5~2 時間早いとされている<sup>2)</sup>。さらに、朝型-夜型に関して自覚的覚醒度や作業課題遂行能力を用いた研究では<sup>3)</sup>、朝型ではこれらのピークが 1 日の早い時期にあることが報告されている。朝型では夜型と比べ早い時期に午前中の体温上昇がおこるとした報告や、メラトニンリズムが朝型において夜型より前進しているとする報告はが、こうした考え方を

を支持している<sup>4,6)</sup>。また、Lavie ら<sup>7)</sup> は、超短時間睡眠・覚醒スケジュール法 (7分-13 分法) を用いて眠気のリズムを測定した結果、朝型では夜間の眠気が夜型に比較して早く出現していたと報告している。しかし、これらの報告の多くは環境、行動、社会的因子、睡眠など内因性の生体リズムに影響を与える要因を排除していないため、生体リズムそのものがどのように変化しているかについては、正確とはいえない。また、職業的に朝早く起きなければならない状況が続いたために、朝型になったという可能性も否定できない。

本研究は、朝型・夜型などのその人個人がとっている睡眠・覚醒スケジュールが内因性の生体リズムとどのような関係にあるかを検討することを目的とする。そのため、統制した条件下でメラトニンリズム、深部体温リズムを測定し、同時に睡眠・覚醒リズムの指標として 1 日の睡眠傾向の変化を客観的に測定し、それらの関係を検討した。

## B. 研究方法

### (1) 対象

対象は 33 名の健常成人で平均年齢は  $22.5 \pm 3.5$  歳 (20~34 歳、男性 22 名、女性 11 名) である。研究に参加するにあたり、十分な説明を行い、書面による同意を得た。睡眠習慣が規則的で偏っていないことを確かめるため、問診により不眠などの睡眠障害がないこと、中枢神経

に作用する薬物を服用していないこと、3ヶ月以内に時差地域を旅行していないことを確認した。さらに、2週間以上にわたる睡眠日誌（毎日の就寝、入眠、覚醒、離床時刻を記入）と携帯型活動量測定装置（アクチグラフ、AMI社製）を用いた連続的な活動量測定により睡眠習慣を確認した。なお、本実験は国立精神・神経センター国府台地区の倫理委員会の承認を得て行った。

## （2）実験デザイン

被験者全員に、朝型-夜型質問紙(MEQ)<sup>9)</sup>による評価を行った。MEQは日常の眠気や気力などに関する質問や作業効率の日内変動パターンについての質問など、全19項目から構成されており、合計評価点(16~86点)により、点数が高いほど朝型傾向が強く、低いほど夜型傾向が強いとされる。この質問紙は個人の朝型-夜型の特性を明らかにできる方法として世界的に広く用いられているが、今回は日本で多用されている石原らの日本語版を用いた。今回の対象者におけるMEQの内的整合性を、MEQの19質問項目についてクローンバック $\alpha$ 値を求めて検討したところ、 $\alpha=0.86$ と非常に高い信頼性が得られた。そこで今回、朝型-夜型の指標としてMEQの総得点を用いた。

実験1日目は自宅において各人の習慣的起床時刻に起床させ、16時まで研究

室に集合させた。簡単な健康に関する問診の後、活動量の測定を開始した。活動量は携帯型活動量測定装置を用いて、1分間ごとの非利き手の活動量を連続的に測定した。21時より、10lux以下の暗条件で実験実施者による監視のもと、座位で安静覚醒を保たせ翌朝まで断眠させた。この時、液晶テレビ、読書、手作業などは許可した。

2日目の朝7時から電極の装着を行い、午前9時から3日目の午前11時まで26時間にわたる超短時間睡眠・覚醒スケジュール法(10分-20分法)で脳波を測定した。脳波は中心部(C3、C4)後頭部(O1)より単極導出し、この他に眼球運動、オトガイ筋筋電図、心電図を同時に測定した。10分-20分法においては、30分を1試行とし、10分間シールドルーム内で安静臥床させる睡眠区間と、20分間実験室において座位安静を保たせる覚醒区間とに分けた。睡眠区間では自由に睡眠をとるように指示をした。睡眠区間の10分間の脳波記録は睡眠段階の国際分類<sup>9)</sup>に従って30秒ごとに段階判定を行い、睡眠段階2、3、4、REMの合計をもって1試行の睡眠傾向とした。10分-20分法による実験中、室温は24~26℃で一定とし、実験室内は10lux以下の低照度に、脳波測定中のシールドルーム内は1lux以下に保った。食事による概日リズムや睡眠傾向への影響を避けるため、2時間ごとに150kcalの食事と約100~150mlのカフ

ェインを含まないノンカロリーの飲み物を与えた。メラトニンリズム測定のため、10分-20分法実施中、30~60分間隔で唾液または血清を採取した。メラトニン値はブルマン社の唾液または血清 RIA キットを用いて測定し、各個人の最高値を100%とする相対値に変換した。なお女性では、黄体期に昼間の睡眠傾向が上昇するという、性周期的変化を考慮して、卵胞期に実験を行った。

### (3) 解析方法

各被験者が記入した睡眠日誌を参考に、実験直前までの5日間の活動量測定結果をグラフに表し、日ごとの睡眠開始及び終了時刻を求めた上で、5日間の平均値をその対象者の習慣的睡眠開始及び終了時刻とした(図1)。同様にして、入眠時刻と覚醒時刻から5日間の睡眠時間を求め、その平均値を習慣的睡眠時間とした。さらに、習慣的睡眠開始および終了時刻の midpoint を、睡眠の midpoint とした。

メラトニン値が50%値を示した時刻をメラトニン上昇開始時刻および下降開始時刻とし、上昇開始時刻と下降開始時刻の midpoint をメラトニンピーク時刻とした(図1)。

10分-20分法における睡眠傾向上昇開始時刻を求めるため、各試行ごとで得られた睡眠傾向の値とその前後の試行で得られた睡眠傾向の値を平均し、移動平均のカーブを求めた(図1の下段に点線で

示す)。移動平均のカーブが低値を示した後、5分を超えた時刻を睡眠傾向上昇開始時刻とした。

MEQ の得点と実験で得られた生体リズムや睡眠に関する指標との関係を調べるため、メラトニンピーク時刻、習慣的睡眠開始および終了時刻、習慣的睡眠時間、睡眠傾向上昇開始時刻について相関係数を算出して検討した。

被験者33人のMEQの得点を高い順に並べ、11人ずつのグループに3分割し、高い方から順に朝型、中間型、夜型とした。さらに、その3群を群分け変数として、メラトニンピーク時刻および睡眠傾向上昇開始時刻から各個人の睡眠の midpoint までの間隔を Mann-Whitney の U 検定を行って、比較検討した。

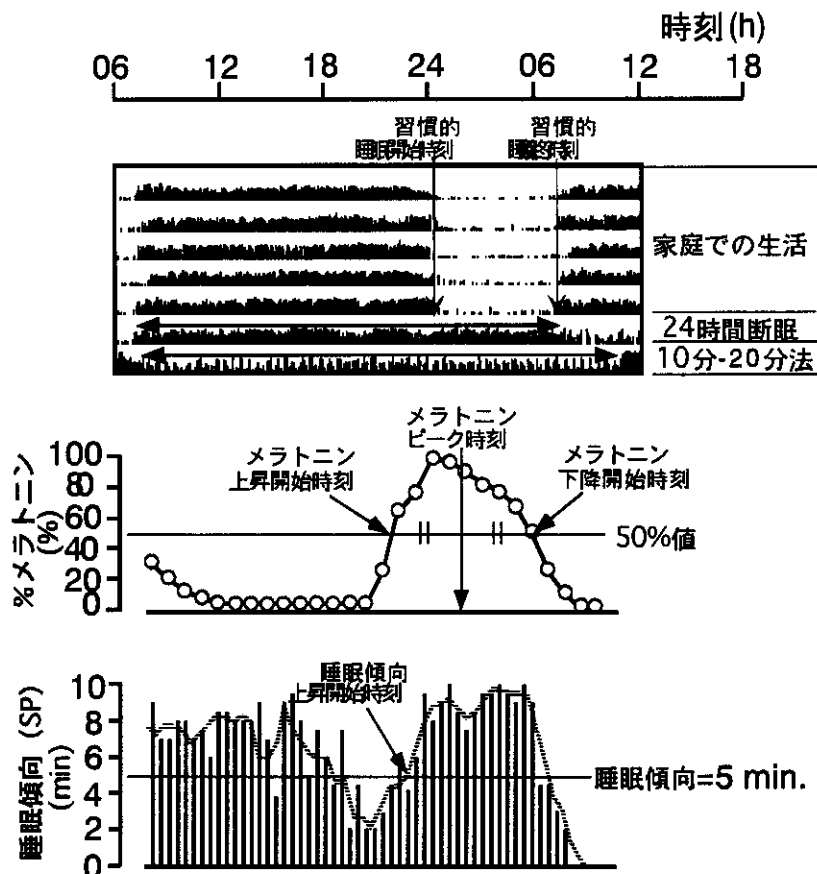


図1 実例における実験の手順

代表的1例における全実験経過のデータを示す。上段は実験5日前から実験終了までにおける1分間毎の活動量を連続的に示してある。縦軸は日、横軸は経過がわかりやすいように6時間分重複させ30時間分の記録を示した。実験5日前から実験1日目の朝までは、自宅で規則正しく生活させた。活動量のグラフより、実験前5日間の睡眠開始時刻と睡眠終了時刻を求め、それぞれの平均値を習慣的睡眠開始および終了時刻とした。実験1日目から翌朝9時まで断眠を行い、続いて3日目の朝11時まで26時間にわたる10分-20分法を行った。10分-20分法の実施中、30分サイクルで10分の安静臥床と20分の座位での安静覚醒を行ったため、活動記録に30分周期の変化がみられる。中段は10分-20分法実施中におけるメラトニンの変化のグラフを示す。最高値を100%とする%メラトニン値が50%である時点をも、それぞれメラトニンの上昇開始及び下降開始時刻とし、その中点をメラトニンピーク時刻とした。下段は睡眠傾向の実例を示す。縦軸は10分の睡眠区間中の各睡眠時間、横軸は時刻を示す。睡眠傾向の90分移動平均カーブのグラフを作成し(点線)、これが低値を示した後5分を超えた時刻を睡眠傾向の上昇開始時刻とした。

### C. 結果

表1に、習慣的睡眠開始時刻、習慣的起床時刻、習慣的睡眠中点時刻、習慣的睡眠時間、メラトニンピーク時刻、睡眠傾向上昇時刻、習慣的睡眠中点時刻-メラトニンピーク時刻、習慣的睡眠開始時刻-習慣的睡眠中点時刻、朝型-夜型スコアなどを示す。

図2に、MEQの得点と、習慣的睡眠開始時刻 ( $r=-.41, p=.02$ )、習慣的睡眠終了時刻 ( $r=-.52, p=.002$ )、メラトニンピーク時刻 ( $r=-.36, p=.04$ )、睡眠傾向上昇開始時刻 ( $r=-.36, p=.04$ )は有意な負の相関を示した。すなわち、MEQの得点が朝型傾向を示すほど、より習慣的睡眠開始および終了時刻、メラトニンピーク時刻、睡眠傾向上昇開始時刻は早い時期に位置していた。その中でも、習慣的睡眠終了時刻で最も強い相関が認められた。

一方、習慣的睡眠時間はMEQと有意な相関が認められなかった ( $r=-.25, p=.17$ )。すなわち日常生活の睡眠時間の長さや朝型-夜型傾向との関連はみられなかった。

メラトニンピーク時刻から睡眠の中点までの間隔は朝型では  $0.94 \pm 0.22$  時間、中間型では  $0.17 \pm 0.53$  時間とメラトニンのピークは睡眠の中点に先行していた(図3)。夜型では  $-0.08 \pm 0.67$  時間と、メラトニンのピークは睡眠の中点より遅れていた。朝型では、中間型および夜型と比較して有意にこの間隔が長かった(対中

間型  $p=.04$ , 対夜型  $p=.03$ )。中間型と夜型の間では有意な差はみられなかった ( $p>.10$ )。

睡眠傾向上昇開始時刻から睡眠の中点までの間隔は朝型で  $6.07 \pm 0.39$  時間、中間型で  $4.93 \pm 0.59$  時間、夜型で  $4.45 \pm 0.86$  時間、いずれも睡眠の中点に先行していた。朝型と夜型の比較では、有意にこの間隔が長かった ( $p=.03$ )。朝型と中間型を比較した場合も長かったが、有意水準には至らなかった ( $p=.08$ )。中間型と夜型の間では有意な差はみられなかった ( $p>.10$ )。

表1

Mean and standard error (SE) of measured parameters in 33 healthy young subjects\*

| Measures                            | Mean  | SE    |
|-------------------------------------|-------|-------|
| Habitual Sleep                      |       |       |
| Hson(h:min)                         | 01:14 | 00:09 |
| Hsoff(h:min)                        | 08:25 | 00:13 |
| HSMP(h:min)                         | 04:33 | 00:11 |
| HSd(h)                              | 7.19  | 0.17  |
| Melatonin peak(MLp,h:min)           | 04:12 | 00:19 |
| Sleep propensity onset (Spon,h:min) | 23:21 | 00:25 |
| Phase relations                     |       |       |
| HSMP-MLp(h)                         | -0.36 | 0.27  |
| Spon-HSMP(h)                        | 5.18  | 0.39  |
| MEQ score                           | 48.63 | 1.69  |

\*Hson,Habitual sleep onset; Hsoff,habitual sleep offset; HSMP,habitual sleep mid-point; HSd,habitual sleep duration; MEQ,Morningness-Eveningness questionnaire.

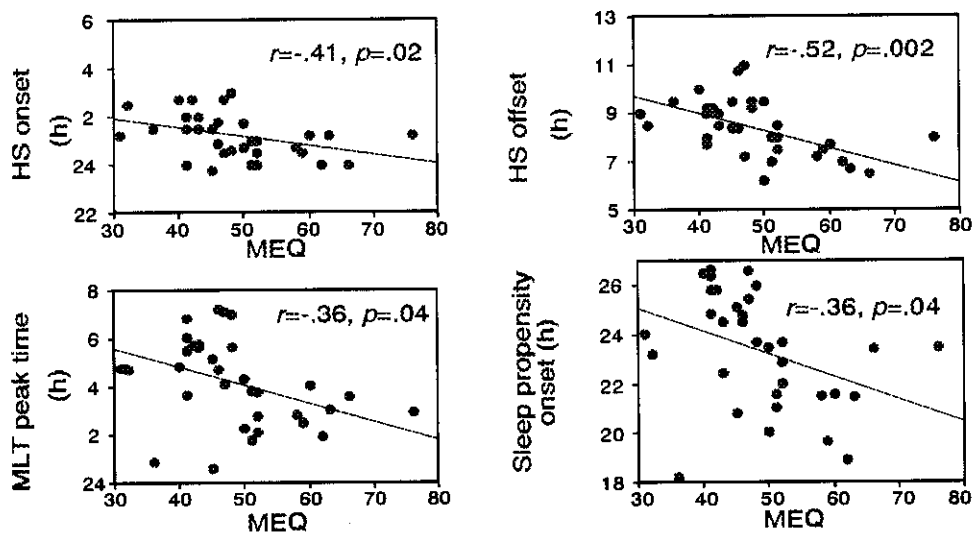


図2 習慣的睡眠開始および終了時刻、メラトニンピーク時刻、睡眠傾向上昇開始時刻とMEQの関係

縦軸に、各習慣的睡眠開始および終了時刻、メラトニンピーク時刻、睡眠傾向上昇開始時刻を、横軸にMEQの得点をそれぞれプロットした。いずれにおいてもMEQと有意な負の関係が得られた。

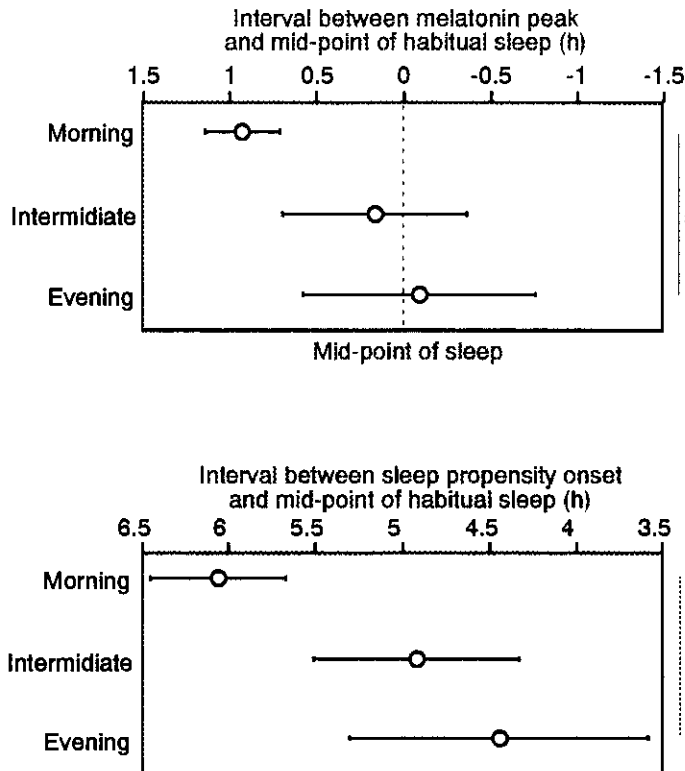


図3 メラトニンピーク時刻および睡眠傾向上昇開始時刻と睡眠の midpoint までの間隔

\* 朝型・中間型・夜型について、メラトニンピーク時刻および睡眠傾向上昇開始時刻と睡眠の midpoint の関係を示した。メラトニンピーク時刻から睡眠の midpoint までの間隔の比較で有意差が出たのは、朝型-中間型と朝型-夜型である

( $p = .04$ ,  $p = .03$ )。中間型-夜型では有意差はなかった ( $p > .10$ )。睡眠傾向上昇開始時刻から睡眠の midpoint までの間隔の比較で有意差が出たのは朝型-夜型である ( $p = .03$ )。朝型-中間型では有意水準には至らないが、差は大きかった ( $p = .08$ )。中間型-夜型では有意差はなかった ( $p > .10$ )。

#### D. 考察

ヒトの睡眠のタイミングは、概日リズムに支配されていることが分かっている。日常生活での朝型と夜型の違いには、背景に何らかの概日リズムの位相の違いがあることがこれまでの多くの研究から予測されてきたが、これを統制された条件のもとで実験的に明らかにした研究は少ない。

今回の研究では概日リズムの指標としてメラトニンリズムを用い、睡眠・覚醒リズムの指標として睡眠傾向上昇開始時刻を用いた。メラトニンリズムは、暗条件で測定すると概日リズムの内因性成分を良く表すことが知られており、ヒトにおいて最も信頼できる位相マーカーとされる。1日の睡眠リズムを客観的に捉えるためには脳波を用いた評価が不可欠であるが、終夜睡眠脳波では、入床・離床時刻といった検査のスケジュールを決める必要があるため、何時頃眠くなるのかを明らかにするには適さない。そこで、26時間にわたり短い周期で睡眠と覚醒を繰り返し、脳波で睡眠傾向の変動を測定することにより、1日中の夜間睡眠がおこる時刻を明らかにする方法として開発された超短時間睡眠・覚醒スケジュール法（10分-20分法）を行った。

今回の朝型-夜型に関する我々の検討では、朝型傾向の強い人ほど早い時間帯に睡眠をとっていることが分かった。さらに、睡眠に関係するメラトニンピーク時

刻や、10分-20分法により社会生活における制約を排除した条件下での夜間睡眠開始時刻も早い時期に位置していた。この結果は、朝型と夜型ではこれまで報告されている入床・起床時刻の違いだけでなく、メラトニンおよび睡眠傾向のリズムにも位相の違いがあることを示唆するものである。

しかし、これだけでは朝型-夜型傾向が長い間の習慣によって形成されたものなのか、あるいは個人の生物学的な体質や素因によるものなのか明らかでない。そのため、対象者を朝型・中間型・夜型に分け、それぞれ習慣的睡眠スケジュールに対するメラトニンピーク時刻や睡眠傾向上昇開始時刻の関係を検討した。その結果、睡眠の midpoint でその3群の睡眠の時間帯を一致させてもなお、朝型では、メラトニンピーク時刻や睡眠傾向上昇開始時刻からみた睡眠開始時刻が早いことが分かった。このことより、朝型は、実際早い時間帯に睡眠をとっているが、生物学的に決められているメラトニンリズムや客観的睡眠開始時刻はこの睡眠のタイミングよりさらに早い時刻に位置することになる。これは、朝型はメラトニンや睡眠傾向のリズムの位相が明暗サイクルに対して早くなりやすく、もともと生物学的に早い時間帯に睡眠をとる傾向があることを示すものである。中間型および夜型の人と比べると、むしろ社会的制約のためこれよりも多少睡眠の時間帯を遅



らせて生活している可能性が示唆される。  
これに対して夜型では、生物学的な特性  
に基づく睡眠のタイミングと社会生活上  
の就寝・起床時刻が比較的一致した生活  
を行っている可能性がある。

これらの検討から、朝型-夜型の違いは、  
メラトニンリズムやこれに関連した睡眠  
傾向のリズムに表現される体内時計に同  
調した生物学的な体質、あるいは素因の  
違いに基づくものであることが示唆され  
た。

## 参考文献

- 1) Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 1976;4:97-110.
- 2) Kerkhof GA :Inter-individual differences in the human circadian system:a review. *Biol. Psychol.*20(1985)83-112
- 3) Posty TB and Ford JA:The morning-evening preference of college students as measured by the Horne and Ostberg questionnaire. *Int J. Chronobiol* 7(1982)141-144
- 4) Duffy JF, Dijk DJ, Hall EF, Czeisler CA(1999): Circadian Rhythms and Morning ness-Eveningness. *Journal of Investigative Medicine* Vol.47, No.3, 1999 Marth , 141-150.
- 5) Gibertini M, Graham C and Cook MR:Self-report of circadian type reflects the phase of the melatonin rhythm. *Biol. Psychol* 50(1999)19-33
- 6)Lavie P and Scherson A : Ultrashort sleep-wakeing schedul *Electroenceph. Clin Neurophysiol.*52 ( 1 9 8 1 ) 163-174
- 7)Lavie P and Segal S : Twenty-four hour structure of sleepiness in morning and evening persons investigated by ultra short sleep -wake cycle. *Sleep*12(1982)141-144
- 8) 石原ら,1988; 本橋 1988: 朝型と夜型、千葉喜彦ら編、時間生物学ハンドブック、朝倉書店
- 9) Sleep Disorders Association : The international classification of sleep disorders. Allen Press Inc Lawrence, Kansas. 1990.

## 研究発表

### 著書

亀井雄一（分担執筆）：特発性過眠症 臨床睡眠医学、1999.

亀井雄一（分担執筆）：てんかん 心の健康百科 弘文堂、1998.

亀井雄一、内山 真（分担執筆）：睡眠相後退症候群 不眠症と睡眠障害 診療新社、大阪、1999.

早川達郎、亀井雄一、浦田重治郎：薬物療法、修正電気けいれん療法、高照度光療法、ホルモン補充療法 うつ病の診断と治療 真興交易、医書出版部、1999.

亀井雄一（分担執筆）：夜間のねぼけ、せん妄、異常行動 痴呆患者さんを理解する、ぎょうせい、東京、1999

### 論文発表

亀井雄一、大川匡子：わが国の睡眠障害 臨床と薬物治療、17 (3) : 218-221.1998.

Yuichi Kamei, Jujiro Urata, Makoto Uchiyama, Tatsuro Hayakawa, Shigeru Ozaki, Kayo Shibui and Masako Okawa : Clinical characteristics of sleep-wake rhythm disorders. Psychiatry and Clinical Neurosciences, 52 : 234-235.1998.

内山 真、大川匡子、渋井佳代、金 圭子、工藤吉尚、亀井雄一、早川達郎、浦田重治郎：概日リズム睡眠障害の病態 脳と精神の医学、9 : 93-102.1998.

亀井雄一、早川達郎、田中邦明：更年期と睡眠障害 治療学、11 : 47-50.1998.

大川匡子、内山 真、亀井雄一：睡眠障害の疫学と治療の意義 臨床精神薬理、1 : 907-911.1998.

亀井雄一、榎本哲郎、秋山幸長、内山 真、大川匡子、浦田重治郎：高照度光療法が有効であった非季節性うつ病の1例 医療、10 : 614-617.1998.

亀井雄一、内山 真：概日リズム睡眠障害—睡眠相前進および睡眠相後退症候群— 精神科治療学、14 : 381-389.1999.

亀井雄一：非24時間睡眠覚醒症候群 日本時間生物学会会誌、5 : 12-20.1999.

田中秀樹、白川修一郎、鍛冶 恵、高瀬美紀、中島常夫、亀井雄一：生活・睡眠習慣と睡眠健康の加齢変化、性差、地域差についての検討 老年精神医学雑誌、10 : 327-335.1999.

室岡 守、早川達郎、富山三雄、亀井雄一、浦田重治郎、清水順三郎、木村武彦、

内山 真、大川匡子、白川修一郎、赤松達也：婦人科と精神科の連携による更年期障害の臨床的研究—ホルモン補充療法の効果からの検討— 精神科治療学、14：877-881.1999.

土井百合子、蓑輪真澄、内山 真、金 圭子、渋谷佳代、亀井雄一、大川匡子：地域住民を対象とした DSM-IV 診断基準による睡眠障害の有病調査について、精神医学、41：1071-1078.1999.

#### 学会発表

亀井雄一、浦田重治郎、内山 真、早川達郎、尾崎 茂、渋谷佳代、大川匡子：睡眠障害専門外来からみた概日リズム睡眠障害の臨床的特徴とその治療 第20回生物学的精神医学会、1998、3. 北九州

亀井雄一：研究病院・睡眠障害専門外来の立場から（ワークショップ） 第23回日本睡眠学会、1998、6. 秋田

亀井雄一、早川達郎、大川匡子、内山 真、渋谷佳代、金 圭子、工藤吉尚、浦田重治郎：睡眠・覚醒リズム障害の時間生物学的治療法の開発（3）、平成10年度厚生省精神・神経疾患研究委託費、研究報告会、1998.12. 東京

亀井雄一、早川達郎、浦田重治郎、内山 真、渋谷佳代、金 圭子、工藤吉尚、大川匡子：メラトニンによる概日リズム睡眠障

害の治療、第21回日本生物学的精神医学会、1999.4.仙台

亀井雄一、早川達郎、浦田重治郎、内山 真、渋谷佳代、金 圭子、工藤吉尚、大川匡子：メラトニンによる概日リズム睡眠障害の治療、第24回日本睡眠学会、1999.8. 広島