

厚生労働科学研究費補助金　こころの健康科学研究事業

ヒト睡眠・覚醒リズム障害の分子生物学的成因解明と
テラーメイド治療法開発に関する基盤的研究

平成15年度～平成17年度

総合研究報告書

主任研究者

内山 真　　国立精神・神経センター精神保健研究所

分担研究者

岡村 均　　神戸大学大学院医学系研究科分子脳科学

尾崎紀夫　　名古屋大学大学院医学研究科精神医学

海老沢 尚　　東京大学大学院医学系研究科睡眠障害学

三島和夫　　秋田大学医学部精神科学教室

角谷 寛　　京都大学大学院先端領域融合医学

尾関祐二　　滋賀医科大学精神医学講座

田ヶ谷浩邦　　国立精神・神経センター精神保健研究所

亀井雄一　　国立精神・神経センター国府台病院精神科

平成18年3月

厚生労働科学研究費補助金　こころの健康科学研究事業

ヒト睡眠・覚醒リズム障害の分子生物学的成因解明と
テラーメイド治療法開発に関する基盤的研究

平成15年度～平成17年度

総合研究報告書

主任研究者

内山 真　　国立精神・神経センター精神保健研究所

分担研究者

岡村 均　　神戸大学大学院医学系研究科分子脳科学
尾崎紀夫　　名古屋大学大学院医学研究科精神医学
海老沢 尚　　東京大学大学院医学系研究科睡眠障害学
三島和夫　　秋田大学医学部精神科学教室
角谷 寛　　京都大学大学院先端領域融合医学
尾関祐二　　滋賀医科大学精神医学講座
田ヶ谷浩邦　　国立精神・神経センター精神保健研究所
亀井雄一　　国立精神・神経センター国府台病院精神科

平成18年3月

目 次

I.	平成15-17年度 総合研究報告書	
	ヒト睡眠・覚醒リズム障害の分子生物学的成因解明と テラーメイド治療法開発に関する基盤的研究	1
	国立精神・神経センター 内山 真	
II.	平成15-17年度 分担研究報告書	
1)	ヒトの時間特性とライフスタイル	10
	国立精神・神経センター 内山 真	
2)	睡眠覚醒障害解明のための時計遺伝子分子機構解明	24
	神戸大学大学院医学系研究科分子脳科学 岡村 均	
3)	生体リズム異常に関与する精神障害の分子遺伝学研究	35
	名古屋大学大学院医学研究科精神医学 尾崎 紀夫	
4)	ヒト生物時計の構造解析、多施設研究リーダー	41
	東京大学大学院医学系研究科睡眠障害学 海老沢 尚	
5)	ヒトの朝方夜型指向性に関する分子遺伝学的研究	53
	秋田大学医学部精神科学教室 三島 和夫	
6)	ヒト睡眠・覚醒リズム障害の疫学的研究	64
	京都大学大学院先端領域融合医学 角谷 寛	
7)	睡眠・覚醒リズム障害の生体リズムの検討	75
	滋賀医科大学精神医学講座 尾関 祐二	
8)	生体リズム特性と断眠時認知機能変化	79
	国立精神・神経センター精神保健研究所 田ヶ谷 浩邦	
9)	生体リズム異常の生理学的背景	102
	国立精神・神経センター国府台病院精神科 亀井 雄一	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	

I. 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
総合研究報告書

ヒト睡眠・覚醒リズム障害の分子生物学的成因解明と
テーラーメイド治療法開発に関する基盤的研究

主任研究者 内山 真

国立精神・神経センター精神保健研究所精神生理部

要旨

わが国において、睡眠・生体リズム障害は頻度が高く、心身の保健に対し重大な脅威となっているばかりでなく、学業や就労上の問題や産業・交通事故の原因となり国民生活に大きな影響を与えている。睡眠・覚醒リズム障害の治療法開発は急務である。適切な治療が行われないと、昼夜逆転が社会生活を不可能にする。さらに、こうした慢性の睡眠・覚醒リズム障害は二次的に様々な身体機能に影響を与え生活習慣病の悪化要因となり、精神科的には神経症、うつ病の原因ともなる。交代勤務に伴う睡眠・覚醒リズム障害では、脱同調症状により、産業事故の原因となる。

本研究の目的は、睡眠相後退症候群、非 24 時間睡眠覚醒症候群、睡眠相前進症候群、交代勤務症候群などのヒトにおける睡眠・覚醒リズム障害の分子生物学的成因および朝型・夜型の時間特性の生理学的基盤を解明し、遺伝素因の多様性に応じたテーラーメイド治療法を開発することである。

1) 分担研究者の相互研究協力により、3 年間にわたる多施設共同研究を行う。各分担者の所属する研究機関において、広い年代層の健常人および多様な睡眠・覚醒リズム障害患者における朝型・夜型特性や社会生活におけるリズム特性などを標準化されたフォーマットを用いて調べるとともに、時計遺伝子を分子生物学的に解析し、ヒトの時間特性および睡眠・覚醒リズム障害に関与する分子生物学的マーカーを明らかにする。2) 各分担者は、個人の時間特性や睡眠・覚醒リズム障害の病態特性にあったテーラーメイド治療法開発のため、朝型・夜型の時間特性の生理学的基盤を明らかにし、若年者に多い睡眠相後退症候群や非 24 時間睡眠覚醒症候群、高齢者でみられる睡眠相前進症候群、交代勤務症候群について、高照度光照射、睡眠操作などの時間生物学的治療法の有効性を明らかにする。

研究組織

研究者名	研究課題	所属研究機関
内山 真	ヒトの時間特性とライフスタイル、研究の総括と推進	国立精神・神経センター精神生理部
岡村 均	睡眠覚醒障害テラーメイド医療のための時計遺伝子分子機構解明	神戸大学大学院医学系研究科分子脳科学分野
尾崎紀夫	生体リズム異常が病態生理に関与する精神障害の分子遺伝学的研究	名古屋大学大学院医学研究科・精神医学
海老沢 尚	ヒト生物時計の構造解析、多施設プロジェクト研究リーダー	東京大学大学院医学系研究科睡眠障害解析学
三島和夫	ヒトの朝方夜型指向性を規定する要因に関する分子遺伝学的研究	秋田大学医学部精神科学教室
角谷 寛	ヒト睡眠・覚醒リズム障害の疫学的研究	京都大学大学院先端領域融合医学
尾関祐二	睡眠・覚醒リズム障害患者の抹消組織を用いた生体リズムの検討	滋賀医科大学精神医学講座
田ヶ谷浩邦	生体リズム特性と断眠時認知機能変化	国立精神・神経センター精神機能研究室
亀井雄一	生体リズム異常の生理学的背景	国立精神・神経センター国府台病院精神科

A. 研究目的

国立精神・神経センターが健康・体力づくり財団の協力で行った研究によると国民の21.3%が睡眠障害に悩まされていることがわかった。一方、時間生物学の発展により、ヒトにおいて生体リズム障害が多くみられることがわかってきた。交代勤務の増加や時差地域間移動の増加が睡眠・生体リズム障害をさらに増加させている。国立精神・神経センター睡眠・生体リズム専門外来の調査では、難治性の睡眠障害のうち約半数はこうした生物時計の異常に起因する生体リズム障害を基盤とする障害であった。高齢者の不眠や老年期痴呆患者の夜間徘徊・異常行動の多く

が生体リズム異常を背景に生じてくることがわかってきた。

このように生体リズムの障害の頻度は非常に高いことが予測される。こうした生体リズム障害を示す疾患は、適切な治療が行われないと、難治性の睡眠障害を引き起こす。特に、高齢痴呆患者では、容易に昼夜逆転し、徘徊や興奮を示すにいたる。生体リズムの障害は二次的に内分泌異常、免疫機能異常などの様々な身体機能に影響を与え生活習慣病の悪化要因となり、精神的には神経症、うつ病の原因となる。さらに、脱同調症状により、学業や就労にも大きな障害をきたし、産業事故の原因となる。一方で、世界規模の経

済活動や 24 時間体制の医療システムの普及により、勤務体制の多様化や国民生活習慣の変化は今後も進むものと思われる。したがって、睡眠・生体リズム障害の治療法・予防法の開発は急務である。

平成 12-14 年度リズム障害班の研究成果から、生体リズムに関する基盤的知見が整理されてきた。本研究の目的は、これらの基盤的知見を発展させ睡眠相後退症候群、非 24 時間睡眠覚醒症候群、睡眠相前進症候群、交代勤務症候群などのヒトにおける睡眠・覚醒リズム障害の分子生物学的成因および朝型・夜型の時間特性の生理学的基盤を解明し、遺伝素因の多様性に応じたテーラーメイド治療法を開発する。

B. 15 年度分担研究成果概要

1) ヒトの時間特性とライフスタイル (国立精神・神経センター 内山 真)

健常成人ボランティアを対象に、長期にわたって携帯型活動量記録装置を用いて睡眠時間や睡眠習慣を明らかにした後、終夜睡眠ポリグラフ検査を行い睡眠内容を定量化するとともに引き続き 36 時間のコンスタントルーチン実験により、深部体温やホルモンのリズムを測定し、個人の時間特性、睡眠習慣、脳波的睡眠変量、生物時計特性の関連を明らかにした。

2) 睡眠覚醒障害のテーラーメイド医療の基盤となる時計遺伝子の分子機構の解明 (神戸大学 岡村 均)

一人一人の体内時間を決定して治療を進める方法を実用化する。具体的には、時計遺伝子発現計測による、簡便な個人の体内時間の決定法の確立、哺乳類時計遺伝子を用いた新しいアッセイ系の確立(培養細胞アッセイ系; 極微弱光による臨床診断法の確立; 光ファイバーによる生体内の遺伝子発現)、時計

遺伝子の転写機構の解明を行った。

3) 生体リズム異常が病態生理に關与する精神障害の分子遺伝学的研究 (藤田保健衛生大学 尾崎紀夫)

何らかの生体リズム異常がその病態生理に關与していると考えられている精神障害として、季節性感情障害をはじめとする気分障害においてもその病態生理に生体リズム異常が關与していることが考えられている。本研究においては、生体リズム関連の遺伝子を候補遺伝子として、生体リズム異常が關与する精神障害の病態生理的解明を目指して、分子遺伝学的アプローチによる研究を行った。

4) ヒトの睡眠覚醒リズム障害に關わる時計遺伝子多型の検出及びその機能解析 (埼玉医科大学 海老澤 尚)

睡眠・覚醒リズム障害患者および健常成人の時計遺伝子を広範に多型解析し、睡眠・覚醒リズム障害発症を促進する遺伝子ミスセンス多型 (hPer3、Mella など)、抑制する遺伝子ミスセンス多型について検討した。ヒトの概日リズムに影響を与える遺伝子多型のカタログ作成を目標とした。

5) ヒトの朝方夜型指向性を規定する要因に關する分子遺伝学的研究 (秋田大学 三島和夫)

強い朝方指向性を遺伝的に引き継いでいる家系の潜在群が一般人口中に存在し、睡眠障害リスクに晒されているものと推測した。強い朝方指向性を有している群を抽出し表現型(睡眠覚醒特性)を評価するとともに、その遺伝的特徴を明らかにするための系統的な家族調査を進めた。さらに、対象者から DNA の提供を受け、朝方夜型指向性の決定に寄与する遺伝子多型の検索を行った。

6) ヒト睡眠・覚醒リズム障害の疫学的研究 (京都大学 角谷 寛)

ヒトの睡眠・覚醒リズム障害に關して、5

00名程度の規模で疫学的研究を行う。その際に、同時に採血を行い、睡眠に関する遺伝子多型の解析も行った。これによって、比較的頻度の高い概日リズム障害及び季節性気分障害のみならず、朝方・夜型などの健常者におけるバリエーションに関しても、関係が想定できる遺伝子多型との関係を検討した。

7) 睡眠・覚醒リズム障害患者の抹消組織を用いた内因性生体リズムの検討(滋賀医科大学 尾関祐二)

睡眠・覚醒リズム障害患者の内因性リズムを抹消組織を用いて検討することを目的とする。被験者より抹消血を採取した後、リンパ球を抽出し EB ウイルスを感染させ不死化した。不死化したリンパ球に対して刺激を与えることで、リズムを生じさせ、複数の時計遺伝子の発現リズムを定量的 PCR で測定した。結果を健常者と比較することで、分子レベルでの概日リズム異常を検討した。

8) 生体リズム特性と断眠時認知機能変化(国立精神・神経センター 田ヶ谷浩邦)

健常ボランティアにおいて睡眠の位相を逆転させ、深部体温・心拍数、睡眠中の睡眠指標、覚醒中の認知機能・血圧・血中メラトニン濃度等を測定し、交代勤務症候群などの睡眠・覚醒リズム障害におこる変化をシミュレートし、こうした睡眠操作に対する脆弱性と朝型・夜型の時間特性を検討した。

C. 16年度分担研究成果概要

1) ヒトの時間特性とライフスタイル(国立精神・神経センター 内山 真)

ヒトがいつ床に就き、いつ起床するかは、おおむね概日リズムに従っていることが考えられる。しかし、日常生活においては、自己の睡眠習慣が概日リズムに支配されていることは自覚されない。おそらく、概日リズム

が就床・起床という行動へ伝達される際には、眠気の日内変動が大きな役割を果たしていると考えられる。今年度は、健常人を対象として、20分の睡眠許可時間と40分の強制覚醒時間よりなる60分を1サイクルとした超短時間睡眠・覚醒スケジュールを80時間にわたり行った。同時に、1時間おきに唾液中メラトニンおよびコルチゾール測定、連続的に深部体温測定を行った。眠気のリズムの指標としては、20分の睡眠許可時間におけるノンレム睡眠の段階2~4、およびのレム睡眠の合計時間を用いた。これらの結果をもとに眠気の *circa-semidian rhythm* および *circadian rhythm* について検討した。その結果、睡眠傾向のリズムには、およそ24時間のコンポーネントと12時間のコンポーネントがあり、これらが睡眠・覚醒の行動を規定していることが考えられた。

2) 睡眠覚醒障害のテーラーメイド医療の基盤となる時計遺伝子の分子機構の解明(神戸大学 岡村 均)

体内時計は細胞内の時計遺伝子の転写振動を司るのに関与する蛋白質機構について、テトラサイクリン非存在下で *Per2* 時計遺伝子が発現する *Per2-Tet-off* 細胞系を用いて検討した。この発現系で *Per2* を非常に強く発現させると、リズムが傷害される。しかし、これは大過剰発現させたときにおこる現象で、少量ある一定量コンスタントに発現させてもリズムは傷害されない。プロテアゾームを阻害する MG132 を加えると時計蛋白の減少は抑制される。脱ユビキチン化酵素である UCHL1 が視交叉上核に大量に存在し、この酵素を欠損するマウスでは、行動リズムの異常が認められた。脳の視交叉上核の振動が自律振動能の弱い末梢臓器の時計を動かす機序について、交感神経が肝臓における時計遺伝子のリズムが交感神経により制御されるこ

とを、時計遺伝子の発現、神経切断実験等で証明した。さらに、メラトニンが視交叉上核を介し、全身の交感神経活動を制御することを証明した。

3) 生体リズム異常が病態生理に関与する精神障害の分子遺伝学的研究 (名古屋大学 尾崎紀夫)

セロトニン(5-HT) 7 受容体は、睡眠覚醒リズムや認知機能に関与し、抗うつ薬、非定型抗精神病薬の薬理作用との関係、さらに染色体上の位置情報からも、双極性障害および統合失調症の病態生理と関係している可能性が示唆されている。そこで、HTR7 を候補遺伝子として連鎖不平衡地図を加味した関連解析を行った。その結果、プロモータ領域の SNP と統合失調症との関連が検出された。本 SNP の機能的意義は CHO 細胞を用いた Dual-luciferase reporter assay では立証されなかった。

4) ヒトの睡眠覚醒リズム障害に関わる時計遺伝子多型の検出及びその機能解析 (東京大学 海老澤 尚)

時計蛋白のリン酸化に関わる CK1ε 遺伝子に概日リズム睡眠障害の発症に影響を及ぼす多型があるのではないかと考え、多型解析を行った。そして概日リズム睡眠障害発症に影響すると考えられる多型を見出し、その多型により PER 蛋白のリン酸化が変化することを示した。Casein kinase Iε (CK1ε) から睡眠相後退症候群発症の抑制因子である S408N 多型を見出し、その多型が CK1ε のリン酸化酵素活性を上昇させることを見出した。また、培養細胞を用いて体内時計機能を調べるシステムを樹立した。

5) ヒトの朝方夜型指向性を規定する要因に関する分子遺伝学的研究 (秋田大学 三島和夫)

健康成人 (第一次調査対象者) 及びその血

縁および非血縁同居家族を対象として、朝型夜型指向性に及ぼす遺伝的要因および環境的要因に関する分子遺伝学調査を進めた。本年度は第一次調査対象である健康成人 1030 人 (平均年齢 36.0 歳, 18 - 77 歳) 及びその同居家族 848 名 (平均年齢 42.3 歳, 5 - 97 歳) について Horne-Ostoberg スコア表, Pittsburg Sleep Quality Index, CES-D スケール (Center for Epidemiological Studies Depression Scale) による朝型夜型指向性, 睡眠状態, 気分に関する質問紙調査を行い, 第一次調査対象者からゲノム検索用の血液検体を採取した。

6) ヒト睡眠・覚醒リズム障害の疫学的研究 (京都大学 角谷 寛)

ヒトの睡眠・覚醒リズム障害に関して、500 名程度の規模で疫学的研究を行う。その際に、同時に採血を行い、睡眠に関する遺伝子多型の解析も行う。これによって、比較的頻度の高い概日リズム障害及び季節性気分障害のみならず、朝方・夜型などの健康者におけるバリエーションに関しても、関係が想定できる遺伝子多型との関係を解明する。職域を対象として、睡眠障害及び睡眠に影響を与えると考えられる疾患の有病割合を調査したところ、睡眠障害の頻度が従来考えられていたよりも高く、特に睡眠呼吸障害は休業のリスクを増している可能性があることが明らかになった。

7) 睡眠・覚醒リズム障害患者の抹消組織を用いた内因性生体リズムの検討 (滋賀医科大学 尾関祐二)

これまでの先行研究よりヒト生体リズムを形成するに当たり重要な役割を担っている遺伝子のひとつと考えられている hper2 遺伝子の多型性と睡眠覚醒リズムの関連を調べた。朝型夜型の測定は、その指標として頻繁に用いられる、Horne-Osberg の朝型夜

型尺度 (MEQ) を用い、睡眠習慣と hper2 遺伝子多型との関連を検討した。健常人 100 名を対象として質問紙を配布したが、有効回答数は 97 名分にとどまった。今回検討した時計遺伝子 hper2 はその遺伝子配列を全体では検討せず、casein kinase I epsilon によってリン酸化される部位を含む exon17 とその近傍、371bps の遺伝子多型性を調べた。遺伝子配列は direct sequence 法により決定した。結果、これまでに報告されている 3 種類の遺伝子多型が検出された。各々の遺伝子多型に関して、MEQ の点数と比較を行った。MEQ の評価は、当初の報告で規定されている方法で、朝型、中間型、夜型の 3 群に分けて検討を行った。その結果、遺伝子多型のひとつ 2114(G/A) [NCBI dbSNP #rs2304670] の allele A を持っていることが夜型と優位に関連していることが示された ($p=0.006$)。母数が少ないこともあり、この結果はさらに母数を増やして検討する必要があると考えられた。

8) 生体リズム特性と断眠時認知機能変化 (国立精神・神経センター 田ヶ谷浩邦)

概日リズム睡眠障害における超短時間型睡眠薬の治療効果が乏しい原因及び、睡眠薬の睡眠、遂行能力、認知機能などへの作用が、服用した際の生体リズム位相により異なるかどうかを明らかにするため、14 名の健常被験者を用いて実験を行った。50 時間にわたって 40 分睡眠をとり 80 分覚醒するスケジュールを繰り返した。睡眠中の睡眠指標、覚醒中の眠気等の主観的な指標、単純反応時間、脳内の無意識な処理過程を反映しているブライミング効果、平衡機能について調べた。被験者をランダムに、2 日目の午後 6 時にトリアゾラム (TRZ) 0.25mg を服用する者と 3 日目午前 0 時に服用する者に分けた。最初の 28 時間の深部体温リズムについて検討し、

深部体温最低点の 6-12 時間に TRZ を服用した者 6 名を Early 群 (E 群)、同 0-6 時間前に TRZ を服用した者 5 名を Late 群 (L 群) として比較した。TRZ 0.25mg は投与時刻 (午後 6 時あるいは午前 0 時) にかかわらず、服用後約 5 時間以内の範囲で、覚醒を減少させ、NREM 睡眠と徐波睡眠を増加させ、入眠潜時を短縮させた。しかし、その作用は早い生体リズム位相で投与された場合は短時間で消失してしまうことがわかった。また、投与時の生体リズム位相の違いにより、TRZ が逆方向の作用を示す場合がみられた (徐波睡眠、総睡眠時間、徐波睡眠潜時、REM 睡眠潜時)。概日リズム睡眠障害において超短時間型睡眠薬の治療効果が乏しい原因を実験的に確かめることができたが、今回の実験では健常者を対象としたためか、実際に臨床で遭遇するような治療効果がない現象を再現することはできなかった。

9) 生体リズム異常の生理学的背景 (国立精神・神経センター 亀井雄一)

睡眠物質の一つであるメラトニンは、概日リズム睡眠障害に有効であるとする報告がなされているが、作用機序については結論が出ていない。そこで、メラトニンのヒト睡眠・覚醒リズムに与える影響について、masking effect の極力少ない方法を用いて、脳波解析を行った。その結果、急性効果としての催眠効果と、2 日目以降の生物リズムを前進させる作用があることが明らかになった。ただしこれらの作用は、メラトニンを投与する時刻依存性があり、臨床応用するには、投与のタイミングが重要であると考えられた。

D. 17 年度分担研究成果概要

広い年代層の健常人および多様な睡眠・覚醒リズム障害患者における朝型・夜型特性、

睡眠習慣の特徴、社会生活におけるリズム特性、社会機能水準、精神科的症状を標準化されたフォーマットを用いて調べるとともに、睡眠・覚醒リズム障害の発症との関与が強く示唆される時計遺伝子を分子生物学的に解析し、ヒトの時間特性および睡眠・覚醒リズムの破綻に関与する分子生物学的マーカー遺伝子を明らかにする。7施設において、500例の健常者と200例の睡眠・覚醒リズム障害患者を対象に研究する。

各分担者は、個人の時間特性や睡眠・覚醒リズム障害の病態特性にあったテーラーメイド治療法開発のため、若年者に多い睡眠相後退症候群や非24時間睡眠覚醒症候群、高齢者でみられる睡眠相前進症候群、交代勤務症候群について、高照度光照射、睡眠操作などの時間生物学的治療法の有効性を明らかにする。

1) 睡眠覚醒リズム障害の病態解明 (国立精神・神経センター 内山 真)

連続57例の検討により、非24時間睡眠・覚醒症候群臨床的特徴、睡眠の特徴、精神疾患との関係について検討した。発症年齢は10代が63%と最も多く、次いで20代が23%と多かった。57例中56例(98%)において規則的に学校や仕事に行けないために社会的機能の破綻を経験していた。26%が、非24時間睡眠覚醒症候群発症前に睡眠相後退症候群に罹患していたことが明らかとなった。28%において、非24時間睡眠覚醒症候群発症前に精神疾患を有していた。本症候群発症前に精神疾患を認めなかった41例中14例(34%)に、本症候群発症後に精神疾患の発症を認め、すべて大うつ病であった。

2) 睡眠覚醒障害のテーラーメイド医療の基盤となる時計遺伝子の分子機構の解明 (神戸大学 岡村 均)

ストレスに伴う副腎皮質ステロイドの分泌は、視床下部-下垂体系による内分泌制御であることが確立されているが、昼夜変動については解明が遅れていた。我々は、光がリズムセンターである視交叉上核を介して副腎皮質の遺伝子転写を変化させ、副腎皮質ステロイドの分泌を増加させる神経機構の存在が明らかにした。この研究により、視交叉上核で生起されたサーカディアンリズムの神経活動が、交感神経系を介し副腎ホルモンリズムに変換され、全身臓器の時計を調律することが明らかとなった。さらに、臨床上では、うつ病や睡眠障害時に効果的な高照度光療法の効果が副腎皮質ホルモンの急激な増大によることが示唆された。

3) 生体リズム異常が病態生理に関与する精神障害の分子遺伝学的研究 (名古屋大学 尾崎紀夫)

生体リズムの異常が双極性障害および大うつ病性障害の病態と関連するとの考えが示されている。*Fragile X mental retardation-1 (FMR1)* と *Anterior pharynx defective 1 homolog B (APH-1B)*, *Circadian locomotor output cycles kaput (CLOCK)*, *Glycogen synthase kinase 3- β (GSK3 β)*, *5-HT1A, 1B (HTR1A, 1B)* はともに生体リズムにおいて重要な役割を果たしていることが示唆されており、双極性障害や大うつ病性障害のゲノム解析の候補遺伝子として妥当と考えられる。a) *FMR1*, *APH-1B*, *CLOCK*, *GSK3 β* と双極性障害との関連解析 b) *HTR1A, 1B* とうつ病の早朝覚醒ならびに日内気分変動との関連解析を行った。その結果、*APH-1B* 上の SNP と双極性障害との関連、*HTR1B* と早朝覚醒と大うつ病性障害の気分日内変動との marginally significant な関連が認められた。

4) ヒトの睡眠覚醒リズム障害に関わる時計

遺伝子多型の検出及びその機能解析(東京大学 海老澤 尚)

Period2 (Per2) 遺伝子の全エクソンを対象に遺伝子多型解析を進め、非 24 時間睡眠覚醒症候群のうち 1 例のみが保有し、睡眠相後退症候群や健常対象者には認められない遺伝子変異を見つけた。また、既に Casein kinase Iε (CK1ε) 遺伝子から見出した概日リズム睡眠障害発症の抑制因子である S408N 多型を導入したモデルマウスを作成するため、targeting vector を作成した。

5) ヒトの朝方夜型指向性を規定する要因に関する分子遺伝学的研究(秋田大学 三島和夫)

朝型夜型指向性に及ぼす遺伝的要因および環境的要因の関与を検討する目的で、1814名の住民を対象として、Horne-Ostoberg スコア表、Pittsburg Sleep Quality Index、CES-Dスケール(Center for Epidemiological Studies Depression Scale)を用いて朝型夜型指向性、睡眠状態、気分に関する質問紙調査を行った。その結果、入眠及び覚醒時刻に共通して強い影響を及ぼす要因として本人の日周指向性が抽出された。またそのほか、入眠時刻には本人の不眠傾向(強)と配偶者の入眠時刻(弱)が、覚醒時刻には本人の性別(弱)と配偶者の覚醒時刻(弱)が影響していた。年齢、交代勤務の有無、同居年数、寝室の共有、食事共有回数、配偶者の日周指向性は影響因子として抽出されなかった。夜型指向性の強いものは、総睡眠時間が短く、入眠困難があり、高い睡眠障害スコアを示した。同時に日中の眠気が強く、抑うつ傾向を示した。

6) ヒト睡眠・覚醒リズム障害の疫学的研究(京都大学 角谷 寛)

職域を対象として、睡眠障害及び睡眠に影響を与えると考えられる疾患の有病割合を

調査したところ、睡眠障害の頻度が従来考えられていたよりも高く、特に睡眠呼吸障害は生活習慣病と関係していることが明らかになった。

7) 睡眠・覚醒リズム障害患者の抹消組織を用いた内因性生体リズムの検討(滋賀医科大学 尾関祐二)

PACAPは光刺激のリズム中枢への影響に関連する遺伝子のひとつである。PACAPの遺伝子多型と健常人の睡眠習慣の関連を検討した。朝型夜型の測定は、その指標として頻繁に用いられる、Horne-Osbergの朝型夜型尺度(MEQ)を用い、睡眠習慣とPACAP遺伝子多型との関連を3つの遺伝子多型部位に焦点を当て検討した。健常人97名を対象に、PACAP遺伝子の検索を行った。rs8192594、rs11540551では塩基に変異は認められなかったが、rs2856966ではA/Aが42名、A/Gが4名、G/Gが1名認められた。しかし、各アレルと朝型・非朝型の関連を調べたところ、カイ二乗値が0.94、フィッシャーの直接確率P値が0.43であり、今回調べた範囲ではPACAP遺伝子が健康成人の朝型夜型傾向に与える影響は認められなかった。

8) 生体リズム特性と断眠時認知機能変化(国立精神・神経センター 田ヶ谷浩邦)

交代勤務、変形労働時間勤務における客観的遂行能力、主観的覚醒度に対して概日リズム位相と睡眠負債がどのように影響を及ぼすかを明らかにするため、12名の健常被験者でコンスタントルーチンを用いて実験を行った。客観的遂行能力(単純反応時間)は断眠開始後14時間から低下し、メラトニン分泌開始時刻(DLMO)その後2時間(体内時計の示す夜)が最長で、DLMO後12-16時間(体内時計の示す日中)が最短となる概日リズムを持っていた。その他の身体・精神機能は、主に断眠・睡眠不足によって影響を受け

るもの、主に生体リズムによって影響を受けるもの、両者の影響を受けるものがあり、シフトワーク中、特に深夜勤務中には日常生活におけるこれらの機能の調和がとれなくなり、心身の不調や、ミス・事故を誘発しやすいことが示された。

9) 生体リズム異常の生理学的背景 (国立精神・神経センター 亀井雄一)

概日リズム睡眠障害の治療法としては、時間生物学的治療法が有効であるとする報告がなされているが、多数例に対する報告はなされておらず、どの時間生物学的治療法を用いるべきかの指針も出ていない。今年度は、非 24 時間睡眠覚醒症候群の連続例に対して時間生物学的治療法を、治療プロトコールを定めて施行し、その有効性と治療反応性に与える因子について検討した。その結果、高照度光療法は 6 割以上の非 24 時間睡眠覚醒症候群に有効であったが、メラトニンが有効であった症例は約 3 割にとどまった。Benzodiazepine 系睡眠薬は、治療効果に影響を与えていなかった。時間生物学的治療法の治療反応性に与える因子は見いだせなかった。

C. 今後の展望

ヒト睡眠・覚醒リズム障害の生物学的成因として、時計遺伝子の規定する時間特性が大きな役割を果たしていることが、分子生物学的研究、および生理学的研究、臨床多数例検討を通じて明らかになった。今後、こうした内因性の特性に応じた時間生物学的介入法の開発を進める必要がある。

II. 平成15-17年度 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金 (こころの健康科学研究事業)
 分担研究報告書

ヒトの時間特性とライフスタイルに関する研究

分担研究者 内山 真

国立精神・神経センター精神保健研究所 部長

〔研究要旨〕

本研究において、ヒトのライフスタイルと時間特性について、メラトニンリズムや眠気のリズムの面からあきらかにした。さらに行動の概日リズムを支配している眠気の変動について検討した。これらの基盤的検討をもとに、非24時間睡眠・覚醒症候群の臨床症状を時間生物学的に検討し、その病態について考察した。

A. 研究目的

平成15年度

ヒトの1日の中での行動特性は昼行性哺乳類に共通したものであるが、早寝早起きで心活動のピークが1日の早い時期にあるものと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があり、こうした特性を朝型、夜型、又は時間特性と呼ぶ。こうした朝型-夜型の特性を調べるために、HorneとOstberg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。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時間早いとされる。メラトニンの分泌開始と終了時刻も朝型は夜型より早いと報告されている。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がいくつかあり、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。しかし、こうした朝型-夜型における睡眠時間帯の違いの背景には、社会的な因子や性格などの二次的関与も当然考えられる。

一方で、社会生活に適応できている人では、日常生活における習慣的起床・就床時刻、すなわち睡眠習慣は、仕事や学校などの社会的スケジュールにより個人の時間特性の違いに関わらず決まる。従って、睡眠習慣、1日の中での眠気の変動、概日リズムの位相と個人の時間特性との関係については明らかでない点が多い。

平成15年度は、社会生活に適応をしており、著しい朝型または夜型傾向を示さない健康成人において、睡眠習慣を明らかにし、統制条件下で24時間のメラトニンリズムを測定し、同時に超短時間睡眠覚醒スケジュール法(10-20法)を行い客観的眠気の日内変動を測定した。これらの関係を明らかにするとともにMEQ得点による朝型-夜型の傾向がこれらの指標に与える影響を明らかにした。

平成16年度

概日リズムが就床・起床という行動へ伝達される際には、眠気の日内変動が大きな役割を果たしていると考えられるこの点について

て明らかにするため、1日の眠気の日内変動を客観的にとらえる超短時間睡眠・覚醒スケジュール法を用いて、恒常条件下での眠気の日内変動を測定した。今回、8名の健常人を対象として、20分の睡眠許可時間と40分の強制覚醒時間よりなる60分を1サイクルとした超短時間睡眠・覚醒スケジュールを78時間にわたり行った。同時に、1時間おきに唾液中メラトニンおよびコルチゾル測定、連続的に深部体温測定を行った。眠気のリズムの指標としては、20分の睡眠許可時間におけるノンレム睡眠の段階2~4、およびのレム睡眠の合計時間を用いた。これらの結果をもとに眠気のcircasemidian rhythmおよびcircadian rhythmについて検討した。

平成17年度

非24時間睡眠・覚醒症候群は、概日リズム睡眠障害の中でも、最も難治でその治療法の開発が待たれている。この症候群は全盲の患者についての研究報告は多いが、視覚障害のない非24時間睡眠覚醒症候群に関しては、多数例について検討した報告は見当たらない。病因については全盲が強い発症要因となることは疑いの余地がないが、視覚障害のない本症候群の場合においては発症のメカニズムについては明らかにされていない。本研究の目的は、視覚障害のない本症候群の多数例について、その臨床的特徴を詳細に検討することである。

B. 研究方法

平成15年度

32名の健常成人が実験に参加した。平均年齢は 22.6 ± 3.5 歳(20~34歳、男性21名、

女性11名)であった。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。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、交代勤務についていないこと、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と携帯型活動量測定装置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。被験者全員に、朝型-夜型質問紙(MEQ)による評価を行った。被験者32人のMEQの得点で朝型(51-70、n=11)、中間型(46-50、n=10)、夜型(31-45、n=11)を3群に分けた。

実験の1週間前より規則正しい生活を送らせ。携帯型活力測定装置を用いて、毎日の就床・起床時刻を求めた。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時までに研究室に集合させた。21時より、10 lux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。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。メラトニンリズム測定のため、10分-20分法実施中、30~60分間隔で血液を採取し、ブルマン社のRadiomunoassay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。

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、日ごとの就床及び起床時刻を求めた上で、5日間の中間値をその対象者の習慣的起床時刻とした。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、その中間値を習慣的睡眠時間とした。実験中のメラトニン分泌量のピークを100%とし、分泌量が10%を上回る時刻をメラトニン分泌開始時刻とし、10%を下回る時刻をメラトニン分泌終了時刻とした。10-20分法における客観的眠気出現時刻を求めため、各試行ごとで得られた睡眠傾向の値を移動平均し、このカーブが低値を示した後、5分を超えた時刻を客観的眠気出現時刻とした客観的眠気出現時刻とした。

平成16年度

研究参加者は、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。各実験セッション1週間前から規則正しい生活をし、飲酒をしないこと、睡眠に影響するような薬物（風邪薬など）を服用しないことを指示した。実験セッションに先立ち、被験者に1週間の睡眠日誌を記録させると同時に、アクチウォッチ（Mini Mitter社）を用いて連続活動量記録を行った。実験セッション1日目は11時に集合し、昼食をとらせ、簡単な健康に関するアンケートを記入させた。実験1日目の16時に実験を開始するま

で実験室の照度は200luxに保った。13時より電極の装着を行った。脳波は3チャンネル（C3-A2, C4-A1, O1-A1）で行ない、その他に眼球運動を右側耳朶（A2）を基準として左右ともに外眼角約1cmの位置から導出した。筋電図は下おとがい筋より双極導出した。さらに心電図記録も行った。

実験セッション1日目16時より実験セッション4日目の22時まで、78時間の間、20分-40分の超短時間睡眠覚醒スケジュール法による脳波測定を行った。20-40分法では60分を1サイクルとし、うち40分間は実験室において座位安静を保たせ、20分間はシードルーム内で安静臥床させ脳波記録を行った（Nap 試行）。40分間の安静・覚醒時には、実験実施者による監視のもと、ビデオ鑑賞、読書、音楽鑑賞、手作業などは許可した。実験室内は恒常暗条件とした。実験中は2時間ごとに150kcalの栄養食品と200cc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。1時間おきに、ホルモン測定のため、専用のスピッツ（BUEHLMANN社）を用いて、唾液を採取した。唾液サンプルは、直ちに-40℃で凍結保存し、RIA法により、唾液中のメラトニンとコルチゾールを測定した。

平成17年度

対象は非24時間睡眠覚醒症候群と診断された57連続例である。睡眠・覚醒リズムに問題を有している人々を、メディア、近隣の一般診療科医師および精神科医師を通じて対象者を集めた。睡眠日誌と質問紙を返送し、国立精神・神経センター国府台病院の睡眠外来に受診することを勧めた。1991年から2001年間に392名が1990

年の睡眠障害国際分類に基づいて概日リズム睡眠障害と診断された。本研究のプロトコールは、国立精神・神経センターの倫理委員会の承認を受けるとともに、各対象者に本研究の手順と可能性のある危険性を詳細に説明した後、インフォームドコンセントを得た。

非 24 時間睡眠覚醒症候群の診断は 1990 年の睡眠障害国際分類の非 24 時間睡眠覚醒症候群の基準に従って行った。概日リズム睡眠障害と診断された 392 例のうち、57 例が非 24 時間睡眠覚醒症候群と診断された。これら非 24 時間睡眠覚醒症候群について DSM-III-R の半構造的な精神医学的面接および社会的機能の評価を施行した。初診時から開始した 2 週間のアクチグラフによる観察を行った。

C. 研究結果

平成 15 年度

MEQ の得点は、習慣的就床時刻 ($r = -0.41$, $p = 0.020$)、習慣的起床時刻 ($r = -0.50$, $p = 0.003$)、メラトニン分泌開始 ($r = -0.53$, $p = 0.002$)、客観的眠気出現時刻 ($r = -0.50$, $p = 0.003$) とのあいだに有意な負の相関を示した。

習慣的就床および起床時刻、メラトニン分泌開始および終了時刻、客観的眠気出現時刻について Mann-Whitney の U 検定で比較した。メラトニン分泌終了時刻は朝型 (9.94 ± 0.37)、中間型 (12.15 ± 0.73)、夜型 (11.2 ± 0.45) で有意差を認めなかった。メラトニン分泌開始時刻は朝型 (21.74 ± 0.33) で中間型 (23.53 ± 0.57)、夜型 (24.08 ± 0.20) と比べて有意に早かった。客観的眠気出現時刻は朝型

(21.81 ± 0.47) で中間型 (23.72 ± 0.70)、夜型 (1.05 ± 0.42) と比べて有意に早かった。習慣的起床時刻からメラトニン分泌開始時刻までの時間は、全体では 14.69 ± 0.18 時間であった。3 群に分けて検討すると、夜型は朝型より有意に長かった。メラトニン分泌終了時刻から習慣的起床時刻までの時間は、全体では 2.69 ± 0.26 時間であった。3 群に分けて検討すると、有意差がなかった。習慣的起床時刻から客観的眠気出現時刻までの時間は、全体では 15.15 ± 0.30 時間であった。3 群に分けて検討すると、夜型は朝型より有意に長かった。習慣的就床時刻からメラトニン分泌開始時刻までの時間は、全体では 2.12 ± 0.24 時間であった。3 群に分けて検討すると、夜型は朝型より有意に短かった。

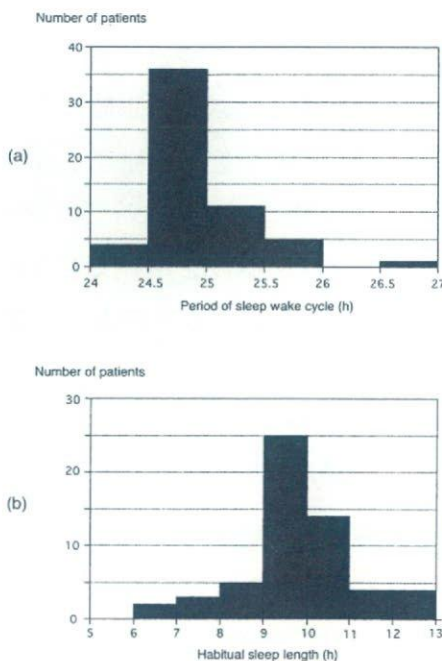
客観的眠気出現時刻から習慣的就床時刻までの時間は、全体では 1.70 ± 0.35 時間であった。3 群に分けて検討すると、夜型は朝型より有意に短かった。メラトニン分泌の持続時間について、全体では 11.96 ± 0.23 時間であった、夜型は中間型、朝型より有意に短かった。

平成 16 年度

昼夜の活動や環境照度を統制した恒常条件下においても、眠気のリズムは 3 周期にわたり規則正しい概日リズムを示した。深部体温最低値出現時刻を 6 時として標準化すると、夜間のノンレム睡眠のピーク時刻は 3 時となり、レム睡眠のピークは 8 時～9 時の間にあった。最も眠気のない時刻（睡眠禁止時間帯）は 21 時であった。日中の眠気は、14 時～15 時にピークを示した。実験前 1 週間の習慣的起床時刻は 8 時であり、習慣的就床

時刻は0時～1時であった。これらの時刻の関係から、夜間ノンレム睡眠のピークと日中の眠気がほぼ12時間の位相関係を示すこと、睡眠禁止時間帯と起床時刻がほぼ12時間の位相関係を示すことがわかった。これらから、眠気の日内変動を考える上で circadian rhythm だけでなく、circasemidian rhythm の視点から現象をとらえる必要があると考えられた。

平成17年度



性差については、男性41例(72%)、女性16例(28%)と男性優位であった。受診時の平均年齢は男性26.3±9.2歳、女性25.8±6.9歳であり、有意差は認めなかった。発症年齢は、平均20.2±7.0歳で、男性20.8±7.6歳、女性18.8±5.1歳であり男女間で有意差はなかった。発症年齢を年代別で見ると、10代の発症が63%と大多数を占めており、20代が23%、30代が11%、40代が3%であった。発症前に精神疾患を有していた症例

が16例(28%)に認められ、睡眠相後退症候群が先行していた症例が15例(26%)に認められた。休学、退学、退職、あるいは退職のような社会的機能の破綻が98%の症例で認められた。

10日間の連続したアクチグラフのデータから得られた睡眠覚醒周期は、すべての症例において24時間よりも長かった。睡眠覚醒周期の平均は24.9±0.4時間であった(図上段a)。習慣的睡眠時間については、平均は9.3±1.3時間であった(図下段b)。睡眠覚醒周期と習慣的睡眠時間との間には関係は認められなかった。また、睡眠覚醒周期および習慣的睡眠時間ともに性差による影響は認められなかった。

本症候群発症前に精神疾患を有していた症例が16例(28%)に認められた。精神疾患の内訳については、適応障害6例、大うつ病3例、統合失調症2例、強迫性障害2例、社会恐怖1例、全般性不安障害1例、および精神発達遅滞1例であった。16例中15例(93.7%)において、これらの精神疾患のために社会的な引きこもりが認められた。

本症候群発症前の精神疾患については前述したとおりであるが、発症前に精神疾患を認めなかった41例中14例(34%)に、本症候群発症後に精神疾患の発症を認め、すべて大うつ病であった。大うつ病を発症した症例の平均発症年齢は23.6±2.4歳であり、大うつ病を発症しなかった症例の平均発症年齢19.2±1.0歳よりも有意に高かった。この内の5症例については、睡眠が昼夜逆転している時期にうつ状態が悪化し、夜間に睡眠がとれている時期に軽快していた。

D. 考察

平成 15 年度

今回の検討で、朝型ほどメラトニン分泌開始時刻、客観的眠気出現時刻が早いことが、明らかになった。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、メラトニンリズムに加えて、これと平行して変動すると考えられている眠気のリズムにおいても位相の違いがあることを示唆するものである。

習慣的起床および起床時刻からメラトニン分泌終了までの間隔については、3群の間に有意な差がなかったが、習慣的起床および起床時刻からメラトニン分泌開始までの間隔について、夜型と朝型の間に有意な差が見られた。先行研究は起床時の高照度光暴露からメラトニン分泌開始までおよそ 14 時間と考えられていたが、今回得られた結果は習慣的起床時刻からメラトニン分泌開始時刻までの時間、全体で 14.69 ± 0.18 時間であり、朝型は 14.31 時間であり、夜型は 15.19 時間であった。これは彼らの推測を支持するものと考えられた。この間隔は一般的な健常成人の平均値として妥当なものだと考えられた。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によると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。我々のデータは朝型-夜型の個体差に応じて、有効な睡眠時間、さらに有効な作業時間の予測することにつながる者と考えられ、個人の時間特性に応じた最も最適な作業スケジュール設定法開発に役立つと思われる。

平成 16 年度

ヒトの深部体温リズムの内因性成分を明らかにする方法として、コンスタントルーチン法がある。これは、恒常暗条件において、およそ 30 時間にわたって覚醒状態を保ち、半臥床状態で深部体温を測定する方法である。この方法を用いることで、血中メラトニン濃度の連続的測定と同様な正確さで生物時計の発振する内因性のリズムの位相を観察することができる。この方法を用いたビタミン B12 の概日リズムに与える影響の実験について紹介する。

生物時計が発振する内因性リズムがヒトの睡眠・覚醒に与える影響について調べるには、生物時計の発振するリズムを正確に測定すると同時に眠気の日内変動を神経生理的手法で測定する必要がある。超短時間睡眠・覚醒スケジュール法は、脳波を用いて客観的に眠気の日内変動を測定する方法として重要である。超短時間睡眠・覚醒スケジュール法では、恒常暗条件において、30 分あるいは 60 分を 1 サイクルとした睡眠・覚醒スケジュールを 30 時間以上にわたり繰り返す。30 分を 1 サイクルとする場合には、20 分間の覚醒の後 10 分間の安静臥床を繰り返す。安静臥床中に脳波を測定し、10 分間の記録中に何分間睡眠脳波が含まれていたかで、1 サイクルにおける眠気を数量化する。この方法を用いることで、日中の眠気の日内変動を客観的に測定し、これが概日リズムに強く支配されていることが明らかになった。

平成 17 年度

本研究から、視覚障害のない非 24 時間睡眠覚醒症候群の発症年齢は、10 代および 20 代が主体であると考えられた。本研究におい