

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：82645

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15045

研究課題名(和文)長期宇宙飛行に向けた人工冬眠への挑戦

研究課題名(英文)Challenge for artificial hibernation for long-term space flight

研究代表者

石岡 憲昭(Ishioka, Noriaki)

国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構・宇宙科学研究所・専任教授

研究者番号：70184471

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文):冬眠(低温環境)による骨格筋の変化を解析し、筋萎縮抑制の作用機序を明らかにし、長期宇宙飛行を可能にする「人工冬眠」への応用を目指している。

低温状態では、アフリカヤマネの骨格筋の酸化系酵素の活性が増大すること、骨格筋の機能や代謝に関わる遺伝子群で、温度依存的に発現量を増加あるいは減少する分子を特定した。熱ショックタンパク質の発現量の増大も明らかにした。以上の結果は、骨格筋の有酸素的な代謝能力を増大させ、骨格筋の機能的な退行的変化を予防する可能性を明らかにした。冬眠しないラットに対して薬物による疑似冬眠の誘発や骨格筋の変化の解析を検討し、疑似冬眠でも筋萎縮を抑制する傾向があることを明らかにした。

研究成果の概要(英文):We analyze changes of skeletal muscle by hibernation (low temperature environment), clarify the mechanism of action of inhibiting muscle atrophy, and aim at application to "Artificial Hibernation" which enables long-term space flight. In the low temperature condition, the activity of the oxidative enzyme of skeletal muscle of African Dormice increased, and the gene which increases or decreases the expression amount in temperature dependent manner in genes related to skeletal muscle function and metabolism was identified, and gene expression of an heat shock protein also increased.

The above results clarified the possibility to prevent functional regressive change of skeletal muscle by increasing the aerobic metabolic capacity of skeletal muscle. In addition, we investigated induction of simulated hibernation by drugs and analysis of skeletal muscle changes in rats that do not hibernate, and revealed that there is a tendency to suppress muscle atrophy even in simulated hibernation.

研究分野：宇宙生命科学

キーワード：宇宙飛行 人工冬眠 筋萎縮 老化

1. 研究開始当初の背景

(1)「人工冬眠」は、古くて新しい技術として惑星間飛行でクローズアップされている。現実的には、神経遮断薬により自律神経を遮断して体温を下げるなど「低体温療法」として医学の分野で活用されているだけである。しかしながら、今年になって米国では血液を冷温生理食塩水で置き換え、その間に外科的処置を行い、術後に生理食塩水を再び血液で置き換えるという、人工冬眠を救命医療に応用する実験が始まり(文献)、また NASA の関連団体では冷気を鼻から体内に注入して体温を内部から下げる方法での人工冬眠を火星有人ミッションに活用する話が浮上している(文献)。

(2)長期への宇宙飛行に「人工冬眠」を応用できれば、食料や水、酸素などの生命維持品や排泄量を減少でき、さらに施設や居住空間を縮小でき宇宙開発コストの低減につながる。しかしながら、低温耐性誘導や骨格筋の萎縮や変性、骨量減少を抑制する分子機構、体温低下に伴う生理活動低下の影響については、未だ殆ど不明であり、包括的に冬眠現象の分子機序を解明することは重要である。

2. 研究の目的

(1)長期にわたる惑星間飛行と宇宙滞在は、骨格筋の萎縮や性質の変化(筋線維のタイプ移行や酸化能力の低下)や骨量減少を引き起こすため、宇宙放射線の影響とともに大きな解決すべき課題になって久しいが、対処法も含め未だ明確に解決していない。冬眠動物であるヤマネやコウモリは、長期にわたり冬眠する。哺乳動物が長期にわたり動きを止めると骨格筋の萎縮や骨量減少が生じるが、冬眠動物では筋萎縮や骨量減少は生じない。(2)本研究では、冬眠(低温環境への滞在を含む)による骨格筋や骨組織の変化をオミクス解析から包括的に理解する。(3)さらに、低体温誘導と耐性維持の分子機構を明らかにすることで長期の宇宙滞在を可能にする「人工冬眠」への応用を目指す。

3. 研究の方法

(1)高磁場 MRI イメージングによる骨格筋、骨の状態の定量化

放射線医学総合研究所の青木らが確立した高磁場 Magnetic Resonance Imaging (MRI) による生体イメージング(文献)で、マウスの全身を非侵襲的に画像解析する方法を検討する。

(2)低温環境に維持したアフリカヤマネの骨格筋の特性

アフリカヤマネ (n=10/group) を 10、15、20、25 (常温) の温度環境において 6 週間にわたって環境制御室内で飼育し、生存率、背部の皮膚温、骨格筋(前脛骨筋)の酸化系酵素(succinate dehydrogenase, SDH) 活性、HSP のサブファミリーである HSP70 の mRNA 発現量を比較した。生存率につ

いては、1 週間ごとに各グループで生き残っているアフリカヤマネの割合を計算した。6 週間後に生存していたアフリカヤマネの背部皮膚温をサーモグラフにより測定した。その後、両側の前脛骨筋を摘出し、急速凍結して-70 のフリーザーで保存した。骨格筋について、SDH 活性を生化学的に測定した。また、前脛骨筋については、HSP70 の mRNA 発現量を測定した。

(3)低温環境下での骨格筋特性の変化

アフリカヤマネの活動を制限した場合の骨格筋特性の変化と低温環境下(15)で飼育して飼育前後での筋骨格の状態を低代謝・低体温の指標となる ATP、筋萎縮関連遺伝子である HSP70、PGC1-、FoxO1 それぞれの mRNA の発現量を測定した。

(4)薬物による人工冬眠誘発

生後 7 週齢の Wistar 系雄性ラット (n=18) を対照群 (Control)、後肢懸垂群 (Hindlimb Suspension)、後肢懸垂+5' AMP 投与群 (HS+5' AMP) の 3 群に分け、実験期間は 2 週間とした。後肢懸垂は Nagatomo ら (2011) の方法(文献)に従い施行する。薬剤投与は Lee ら (2010) の方法(文献)に従い、Adenosine 5'-monophosphate sodium salt (5'-AMP) を 0.5mg/kg/日の量を決まった時間に投与した。体温およびヒラメ筋を摘出し重量測定を行い、筋萎縮を評価した。

4. 研究成果

(1)高磁場 Magnetic Resonance Imaging (MRI) 生体イメージングにより、冬眠導入直後と長期間冬眠後の骨格筋、骨のイメージングから筋骨の状態を解析するための準備実験を実施したが、複数の筋が起始停止する接合部付近での判別が難しく検討が必要になり、準備実験としての画像がまだ解析中で初年度内に終了しなかった。しかしながら撮像範囲を絞ることで撮影時間を短縮し軟部組織を明瞭に取れることが確認され、骨格筋以外にも心筋の動きを比較解析できることが判明した。

(2)アフリカヤマネを低温環境(15)で飼育し飼育前後での筋骨格の状態を解析した結果、活動を制限するとマウス、ラット同様に筋の萎縮が観察され酸化系酵素である SDH 活性が減少することが明らかになる一方、低温環境下での飼育ではマウスでは環境温度に関係なく皮膚温(体温)を維持しているが、アフリカヤマネでは環境温度の変化に従いほぼ環境温度まで皮膚温(体温)を下げることを明らかにした(図 1)。また、SDH 活性が増大することが判明した(図 2)。

(3)常温(25)と低温(15 と 20)での 6 週間の生存率は、いずれも 100%であった。一方、10 の飼育では、2 週目に 50%の生存率、3 週目に 30%の生存率、4 週目には生存

しているアフリカヤマネは認められなかった(表1)。

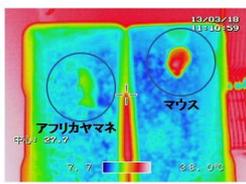


図1 ヤマネの体温変化

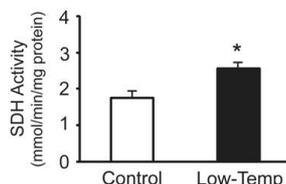


図2 SDH 活性の変化

表1 低温飼育での生存率

生存率 (%)	1週目	2週目	3週目	4週目	5週目	6週目
25°C	100	100	100	100	100	100
20°C	100	100	100	100	100	100
15°C	100	100	100	100	90	90
10°C	100	50	30	0	0	0

飼育6週目目の背部の表面皮膚温(体温)については、25で飼育したヤマネでは 32.1 ± 0.3 、20で飼育したヤマネでは 24.3 ± 1.1 、15で飼育したヤマネでは 17.3 ± 0.4 と、環境温度に体温を順応させることが明らかになった。筋の酸化系酵素(SDH)活性については、25及び20で飼育したヤマネではほとんど差がなく、一方15で飼育したヤマネでは20および25で飼育したヤマネの前脛骨筋におけるSDH活性よりも有意に高い値を示した。筋の酸化活性が増大することで代謝能力を上げて低温時の代謝を維持していることが明らかとなった。

(4) 活動制限飼育下で筋萎縮を起こしたヤマネの筋では筋酸化活性が低下し、PGC-1のmRNAは減少し、低温下では温度依存的にPGC-1のmRNAは増加することを明らかにした(図3)。

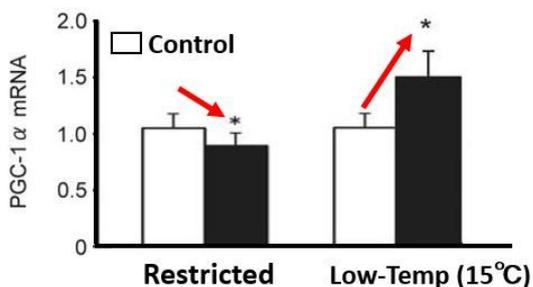


図3 活動制限及び低温飼育下でのPGC-1 mRNA量

筋のHSP70(Heat shock protein 70)のmRNA発現量(25で飼育したヤマネの発現量を1として計算)については、25で飼育したヤマネでは 1.00 ± 0.08 、20で飼育したヤマネでは 1.02 ± 0.09 で差がなく、15で飼育したヤマネでは 1.43 ± 0.13 であった(図4)15で飼育したヤマネの筋におけるmRNA発現量は、20および25で飼育したヤマネよりも有意に高い値を示した。コウモリの冬眠前後では骨格筋に萎縮が認められ

ず、さらに、筋萎縮の抑制にはHSP70が関係していることが報告されており(文献、)同様にアフリカヤマネにおいてもHSPが関係し、低温飼育では発現量が増加することを明らかにした。

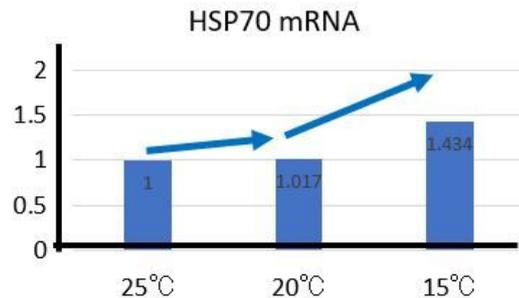


図4 各飼育温度でのHSP70mRNA量

(5) 冬眠しないラットに対して薬物による疑似冬眠の誘発や骨格筋の変化の解析を検討した。ラットに5'-AMPを投与し20で飼育したところ、投与後体温を下げ、飼育環境温度近くまで低下させた状態で約4時間低温を持続した(図5)。

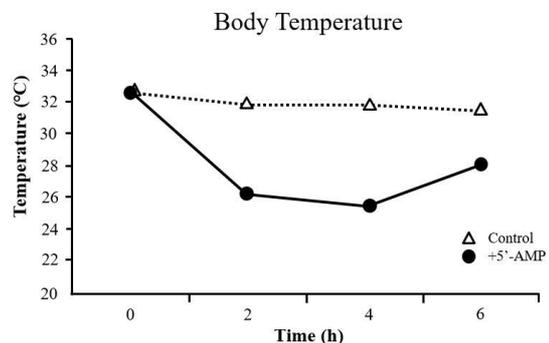


図5 5'-AMP投与後の体温変化

尾部懸垂ラットと5'-AMP投与後の尾部懸垂ラットのヒラメ筋をそれぞれ比較し、疑似冬眠でも筋萎縮を抑制する傾向があることを明らかにした。

<引用文献>

Popular Science, 06.03.2014,
<http://www.popsci.com/article/science/how-it-works-putting-human-in-suspended-animation>
<http://www.sei.aero/eng/papers/uploads/archive/NIAC-Torpor-Habitat-for-Human-Status-2-28-2014.pdf>

Aoki I, et al., In vivo detection of neuroarchitecture in the rodent brain using manganese-enhanced MRI. *Neuroimage.*, 22, 1046-1059, 2004.

Nagatomo F, Ishioka N, et al., PGC-1α mRNA level and oxidative capacity of the plantaris muscle in rats with metabolic syndrome, hypertension, and type 2 diabetes., *Histology and Histopathology*, 26, 2011, 1545-1553

Daniels IS, Lee CC, et al., A role of erythrocytes in adenosine monophosphate initiation of hypometabolism in mammals., *J.*

Biol. Chem., 285(27), 2010, 20716-20723.

Lee, K., et al., Overcoming muscle atrophy in a hibernating mammal despite prolonged disuse in dormancy: Proteomic and molecular assessment., *J. Cell. Biochem.*, 104, 2008, 642-656

Lee, K., et al., Molecular mechanism underlying muscle mass retention in hibernating bats: role of periodic arousal., *J. Cell. Physiol.*, 222(2), 2010, 313-319

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

石岡憲昭、吉原育美、石原昭彦、低温環境下での骨格筋特性の変化、第 31 回日本宇宙生物科学会、2017 年 9 月 群馬

〔図書〕(計 1 件)

石岡憲昭、共立出版、宇宙生命科学入門、2017、212

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石岡 憲昭 (ISHIOKA, Noriaki)
宇宙航空研究開発機構・宇宙科学研究所・教授
研究者番号：70184471

(2) 研究分担者

石原 昭彦 (ISHIHARA, Akihiko)

京都大学・人間・環境学研究科・教授
研究者番号：90184548

(3) 連携研究者

東端 晃 (HIGASHIBATA, Akira)
宇宙航空研究開発機構・有人宇宙技術部門・主任開発員
研究者番号：30360720

青木 伊知男 (AOKI, Ichio)
放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・チームリーダー
研究者番号：10319519

湊 秋作 (MINATO, Shusaku)
関西学院大学・教育学部・教授
研究者番号：50580669

寺田 昌弘 (TERADA, Masahiro)
東京慈恵医科大学・医学部・助教
研究者番号：10553422

(4) 研究協力者

()