

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19321

研究課題名(和文)冬眠する哺乳類の自発的な低体温誘導機構の解析

研究課題名(英文) Investigation of mechanisms inducing spontaneous hypothermia in a mammalian hibernator

研究代表者

山口 良文 (Yamaguchi, Yoshifumi)

北海道大学・低温科学研究所・教授

研究者番号：10447443

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：冬眠は、全身性の代謝抑制により低温・乾燥・飢餓といった極限環境下での長期生存を可能とする生存戦略である。冬眠する小型哺乳類であるシリアンハムスターは、冬眠期のあいだ、体温が10度以下の深冬眠と、そこから復温して体温37度となった中途覚醒を繰り返す。数ヶ月にわたる冬眠期間のあいだ、深冬眠と中途覚醒は何度も繰り返し生じるが、その制御機構は未だ殆ど不明である。本研究はこの点に迫るため、深冬眠と中途覚醒との間で、組織での遺伝子発現量が大きく異なる遺伝子群DTIG (Deep-torpor-induced genes)を同定した。さらにそのうちの1遺伝子について遺伝子改変動物の作出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本成果で同定された、冬眠に伴う低体温の際に大幅に発現量が変動する遺伝子の役割を個体や細胞において検証していくことで、哺乳類の冬眠の際に大幅な体温低下を引き起こす機構や、そうした体温低下への組織の適応生存機構が明らかになると予想される。さらにそこで得られる知見は低体温療法や移植医療の際の臓器保存等への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Hibernation is the adaptive strategy that enables long-term survival in extreme environments such as cold, dryness, and starvation by suppressing metabolism systemically. During the hibernation period, the Syrian hamster, a small mammal that hibernates, repeats torpor-arousal cycles, during with a body temperature dramatically changes from 10 or less to 37 degrees celsius. However, mechanisms controlling the torpor-arousal cycle is still largely unknown. To approach this question, we identified DTIG (Deep-torpor-induced genes), a group of genes whose expression levels in tissues differ greatly between torpor and arousal. Furthermore, we succeeded in producing genetically modified animals for one of these genes.

研究分野：分子冬眠学

キーワード：低体温

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の冬眠は、全身性の代謝抑制により低温・乾燥・飢餓といった極限環境下での長期生存を可能とする生存戦略である。冬眠する小型哺乳類であるジリスやシリアンハムスター (*Mesocricetus auratus*) は、冬眠期のあいだ、深冬眠と中途覚醒と呼ばれる状態を繰り返す (図1)。深冬眠では、体温は外気温 + 1 °C まで低下し (外気温 4 °C の場合、深部体温 5-6 °C)、心拍数も 1 分間に 10 回程度まで低下する。深冬眠は数日から 1 週間近く経過したのち、中途覚醒により中断される。深冬眠から中途覚醒への移行時には、体温は数時間で 36 °C 付近まで回復する。この哺乳類の正常体温域である中途覚醒状態は半日程度継続し、再び体温が低下し深冬眠状態となる。ヒトやマウスなど多くの非冬眠哺乳類は長時間の低体温下では臓器機能を保持できず死に至ることを鑑みると、こうした冬眠自体が驚異的だが、その制御機構は未だ多くが殆ど不明である。その要因として、冬眠研究のメインモデルであるリスやクマは、分子実体が全く不明の内因性の概年リズムに従い冬にしか冬眠しないため研究に時間を要する点や、野生由来のため遺伝的多様性や生息環境の違いなど個体差の影響が大きく結果の解釈が困難な点があげられる。一方、シリアンハムスターは概年リズムに依存せず実験室での冬眠誘導が年間を通して可能であり、かつ遺伝的背景の比較的均一なクローズドコロニーからの飼育個体の供給が可能のため、冬眠の分子機構検証モデルとして優れている。

2. 研究の目的

本研究では、シリアンハムスターを用いて、体温 36 °C 付近の中途覚醒状態から体熱産生を抑制し体温 5 °C の深冬眠状態への移行を誘導するシグナル同定を試みた。そのためにまず、体温が 36 度から自発的低体温へと移行開始する際に大きく発動変動する遺伝子を同定し、その変動機構を機能を解析することで、自発的低体温誘導機構に迫ることを目的とした。

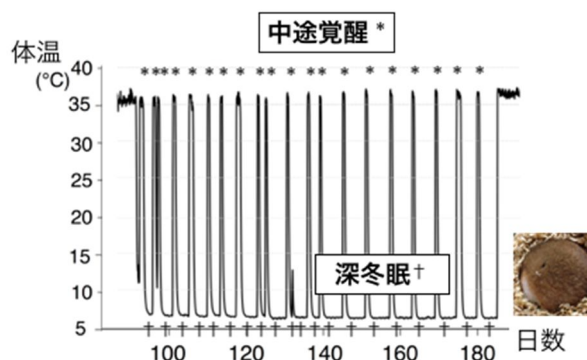


図1. ハムの深冬眠-中途覚醒サイクル 低温短日飼育室環境下で冬眠したハムの深部体温の変動.

3. 研究の方法

まず、我々が以前から行っているシリアンハムスターRNA-seq 解析データを詳細に分析し、深冬眠状態と中途覚醒状態とで発現量が大きく変動する遺伝子群を捕捉する。さらに麻酔薬で強制的に低体温を誘導した際と深冬眠状態との遺伝子発現量を比較することで、低体温応答の結果発現誘導される低体温応答遺伝子と、強制低体温では誘導されず深冬眠特異的に誘導される深冬眠特異的遺伝子、との分類を行う。こうして同定される、深冬眠特異的遺伝子 DTIGs (Deep torpor induced genes) について、その発現制御機構や個体での機能検証を行った。

4. 研究成果

冬眠期のシリアンハムスターが低体温へ移行する際に、発現が著しく上昇または低下する遺伝子を、RNA-seq 解析および定量 PCR 解析により、肝臓および腎臓において多数同定した。さらに経時的遺伝子発現量解析により、深冬眠特異的遺伝子の中にも、体温が 36 度から低下するさなかに上昇または減少する遺伝子群 DTIGs (Deep torpor induced-change genes) が含まれることを明らかにした。これらについて、麻酔薬 (イソフルラン Isoflurane) および低体温を誘導するアデノシン A1 受容体作動薬 (CHA) で強制的に低体温を誘導した際の遺伝子発現変化との比較を、定量 PCR により行った。その結果、常温 (RT) 飼育した個体や PBS 東予した個体と比較して、DTIGs は低体温応答の結果発現誘導されるものと、強制低体温では誘導されず深冬眠特異的に誘導されるもの、とに分類された (図2)。

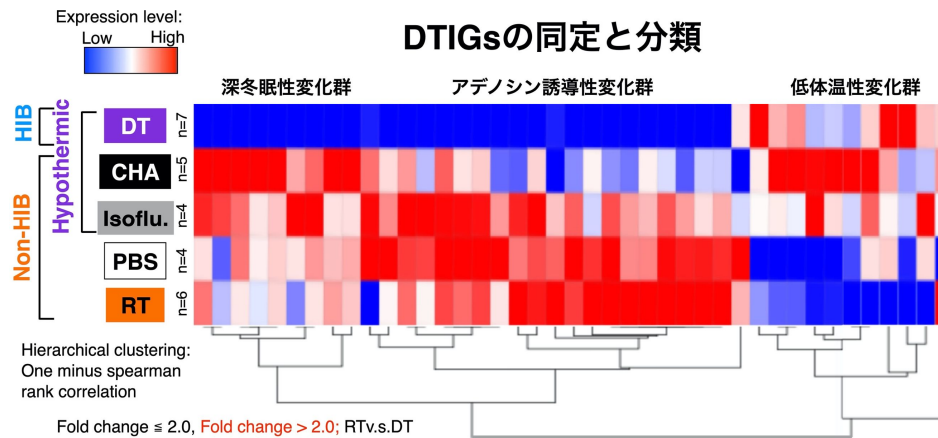


図 2. DTIGs の遺伝子発現変化様式を, qPCR による遺伝子発現変化レベルを階層的クラスタリングにより分類した. 各列が一つの遺伝子をあらわす.

これら DTIGs のうち、特に顕著な発現変動を示した DTIG1 について、ゲノム編集技術を用いて遺伝子破壊 (KO) シリアンハムスターを作出した。これらの遺伝子破壊個体はメンデル比で出生し成体まで生存可能であった。得られた KO 個体について、数個体ではあるが低温室で冬眠誘導実験を行なったところ、一部の個体は冬眠が誘導されなかった。今後より多くの個体数の解析が必要ではあるが、DTIG1 は個体レベルで冬眠発動に関わる遺伝子である可能性が高く、今後の発展が大いに期待される成果と言える。具体的には、本成果で同定された、冬眠に伴う低体温の際に大幅に発現量変動する遺伝子の役割を個体や細胞において検証していくことで、哺乳類の冬眠の際に大幅な体温低下を引き起こす機構や、体温低下への組織の適応生存機構が明らかになると予想される。さらにそこで得られる知見は低体温療法や移植医療の際の臓器保存等への応用が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 山口良文	4. 巻 43(3)
2. 論文標題 哺乳類の冬眠 低代謝と低体温による生存戦略	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 基礎老化研究	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chayama Yuichi, Ando Lisa, Sato Yuya, Shigenobu Shuji, Anegawa Daisuke, Fujimoto Takayuki, Taii Hiroki, Tamura Yutaka, Miura Masayuki, Yamaguchi Yoshifumi	4. 巻 9
2. 論文標題 Molecular Basis of White Adipose Tissue Remodeling That Precedes and Coincides With Hibernation in the Syrian Hamster, a Food-Storing Hibernator	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 9:1973
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2018.01973	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 山口良文	4. 巻 38(6)
2. 論文標題 冬眠・休眠のバイオロジー 哺乳類冬眠の基礎知識～なぜいま、冬眠研究か？	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 970-973
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 姉川大輔, 三浦正幸, 山口良文	4. 巻 50(9)
2. 論文標題 哺乳類の冬眠を可能とする低体温耐性機構	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 月刊「細胞」	6. 最初と最後の頁 477-479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山口良文	4. 巻 50(9)
2. 論文標題 低温の生物学と医学への応用	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 月刊「細胞」	6. 最初と最後の頁 458-459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計22件（うち招待講演 12件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 哺乳類の冬眠を可能とする「冬眠能」の構成因子:低温耐性の観点 から
3. 学会等名 抗加齢学会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠する哺乳類シリアンハムスターに学ぶ、冬眠するための体とは
3. 学会等名 日本低温生物工学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠を可能とする長期寒冷下での全身可逆的リモデリング
3. 学会等名 日本生化学会北海道支部会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠する哺乳類シリアンハムスターが示す環境応答と低温細胞死耐性
3. 学会等名 日本Cell Death学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 小型冬眠動物が有する低体温耐性機構と季節性の体の変化
3. 学会等名 日本獣医学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 哺乳類の冬眠における体温変化様式
3. 学会等名 数理生物学学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 哺乳類の冬眠を可能とする低温耐性
3. 学会等名 日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 哺乳類の冬眠の分子制御機構解明にむけたアプローチ
3. 学会等名 定量生物学の会 札幌キャラバン（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 哺乳類の冬眠に備えた全身代謝共役変化～シリアンハムスターからのアプローチ
3. 学会等名 群馬大学生体調節研究所 内分泌代謝シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠する哺乳類シリアンハムスターが示す低温耐性
3. 学会等名 日本生理学会（誌上開催に変更）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 Systemic body remodeling preceding hibernation in a mammalian hibernator, Syrian hamster
3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies congress in conjunction with the 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (FAOPS2019)（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 シリアンハムスターの冬眠生活環と連動した遺伝子発現変化
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 姉川大輔、茶山由一、安藤理沙、泰井宙輝、重信秀治、佐藤佑哉1、三浦 正幸、山口良文
2. 発表標題 冬眠する哺乳類シリアンハムスターの細胞自律的な低温耐性
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤佑哉、藤本貴之、茶山 由一、安藤理沙、姉川大輔、齊木選射、嘉糠洋陸、三浦正幸、山口 良文
2. 発表標題 哺乳類冬眠動物が冬眠期に骨格筋量を制御するメカニズムの解析
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 Skeletal muscle atrophy before hibernation and recovery after hibernation in a mammalian hibernator, Syrian hamster.
3. 学会等名 Europhysiology2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠する哺乳類に学ぶ、長期寒冷下での白色脂肪と骨格筋の可逆的リモデリング
3. 学会等名 アディポサイエンス研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠動物が有する低体温耐性機構の解明にむけて
3. 学会等名 第二回冬眠休眠研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠する哺乳類シリアンハムスターを用いた冬眠能の解析
3. 学会等名 モロシヌス研究会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 Elucidating the roles and regulation of cell death in mammalian development and physiology
3. 学会等名 Australia-Japan Meeting on Cell Death（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 哺乳類の冬眠を可能とする生体状態とは？
3. 学会等名 生理研研究会「生命のエネルギー獲得戦略における多様性と共通原理の理解にむけて」(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠研究のこれまでとこれから
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 哺乳類冬眠動物の細胞が示す低温耐性
3. 学会等名 千里ライフサイエンスシンポジウム「細胞死研究の新展開」(招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

北海道大学低温科学研究所冬眠代謝生理発達分野
<http://www.lowtem.hokudai.ac.jp/hibernation/>
 冬眠ハムスターの白色脂肪組織に冬支度の秘密をみる ~肥満や生活習慣病予防へも新たな視座~
https://www.hokudai.ac.jp/news/190129_pr.pdf

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------