

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H05766

研究課題名（和文）冬眠発動の分子機構：深冬眠実行の分子基盤と飢餓性休眠との共通性の解明

研究課題名（英文）Toward understanding a common molecular basis for deep torpor and fasting-induced torpor

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） 30,600,000円

研究成果の概要（和文）：哺乳類の冬眠・休眠は、寒冷下で積極的に体熱産生を抑制し極端な低代謝・低体温状態で乗り切る生存戦略である。この極端な低代謝・低体温状態を「休眠（Torpor）」と呼ぶ。季節性に生じる冬眠では、長時間の低体温・不動状態の「深冬眠」とそこから自発的に復温する「中途覚醒」を幾度も繰り返す。しかし、その意義と制御機構は全く不明であった。本研究では、シリアンハムスターの深冬眠時に全身複数臓器でmRNA量が多くみられたDEG1遺伝子が冬眠の発動に重要な機能を担うことを変異体の作出により個体レベルで明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、冬眠する哺乳類において冬眠発動に関わる遺伝子を遺伝学的手法で同定した初の事例として大きな学術的意義がある。更なる研究により、その制御機構が明らかになると期待される。また冬眠に関与する遺伝子の同定は、自然界の動物がいかにして厳しい冬季を生き抜くのかについての洞察を与え我々人間の視野を広げる点だけでなく、将来的なヒトへの医療応用、たとえば臓器移植・救急医療・低体温療法などへの波及効果も期待される点で、社会的意義もあると言える。

研究成果の概要（英文）：Hibernation in mammals is an adaptive strategy with hypometabolism and hypothermia in which thermogenesis is actively suppressed for the survival in seasons with cold and little food. Such extreme hypometabolism and hypothermia is called deep torpor and repeated during a long hibernation period. Mechanisms of hibernation and torpor remained largely unknown. Using molecular and genetic approaches, we found that the DEG1 gene, whose mRNA levels were high in multiple organs of the body during deep hibernation in the Syrian hamster, plays an important function in triggering hibernation.

研究分野：生理学

キーワード：冬眠 哺乳類 生理学 体温調節

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の冬眠・休眠は、寒冷下で積極的に体熱産生を抑制し極端な低代謝・低体温状態で乗り切る生存戦略である。この極端な低代謝・低体温状態を「休眠 (Torpor)」と呼ぶ。季節性に生じる冬眠では、長時間の低体温・不動状態の「深冬眠」とそこから自発的に復温する「中途覚醒」を幾度も繰り返す。しかし、その意義と制御機構は全く不明であった。これまでに、これら冬眠の際の状態変化に伴う遺伝子発現変化については、ジュウサンセンジリスをはじめ、複数の冬眠哺乳類において記載的報告があった。我々も小型冬眠哺乳類シリアンハムスターにおいて、深冬眠の際に大幅に発現変動する遺伝子群(Differentially Expressed Genes: DEGs)を、網羅的遺伝子発現解析から同定していた。これらの中に冬眠制御に重要な遺伝子があるという作業仮説が想定されたが、我々のものを含めた先行研究において、これらの遺伝子発現変動が冬眠において果たす役割を機能的に検証した事例は、冬眠哺乳類での遺伝子改変や機能解析の困難さから報告が殆ど無かった。

2. 研究の目的

本研究では、哺乳類冬眠の制御に関わる遺伝子を機能的に同定することを目指した。そのために、我々は以前の研究で同定した DEGs のなかから、シリアンハムスターの深冬眠時に全身複数臓器で mRNA 量が多くみられた DEG1 遺伝子に着目し、その冬眠における機能を明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

DEG1 の機能を欠損したシリアンハムスターおよびマウスを作出し、代謝生理学的解析、分子生物学・生化学的解析、薬理的解析等により冬眠・休眠制御における DEG1 の機能を明らかにすることを目指した。シリアンハムスターは長日常温で繁殖後、適切なタイミングで短日寒冷条件へと移行し冬眠を誘導した(図1)。マウスは一晩絶食条件におくことで飢餓誘導性休眠を誘導した。

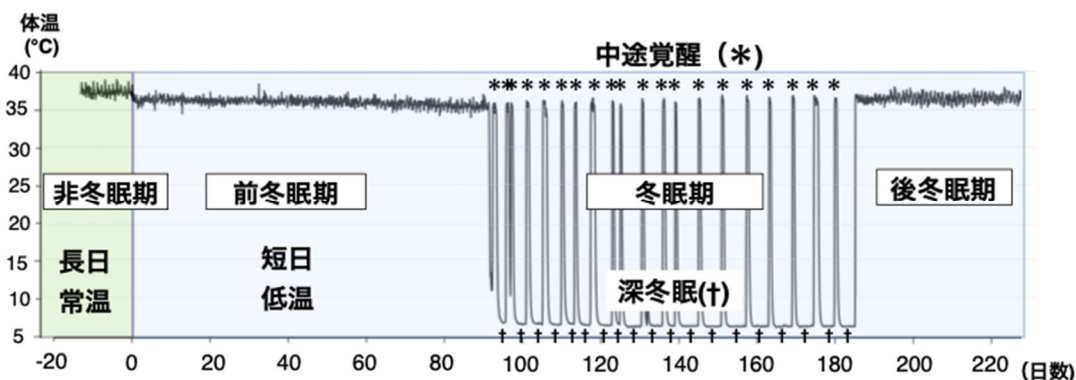


図1. 小型冬眠動物シリアンハムスターの冬眠に伴う体温変化図

4. 研究成果

DEG1 が冬眠・休眠に果たす役割の解明のため、まず飢餓誘導性休眠および冬眠における表現型の解析を行った。同領域の A02 砂川班と連携して作出した DEG1 欠損マウスを絶食による飢餓にさらすと、野生型マウスでは発動するはずの飢餓誘導性休眠が発動しないことが判明した。そこで次に、理化学研究所・小倉淳郎博士・廣瀬美智子博士らとの共同研究によりシリアンハムスターにおける GONAD 法によって作出した DEG1 欠損シリアンハムスターを用いて、これらを短日・寒冷条件下で長期間飼育し冬眠誘導実験を行った。その結果、野生型個体の多くが数ヶ月で冬眠を発動する短日・寒冷環境での長期飼育下でも、DEG1 欠損シリアンハムスターの約半数は冬眠を発動しなかった。のこり半数の個体は冬眠したが、短日・寒冷環境下に置かれてから冬眠を発

動するまでの前冬眠期が延長するという、冬眠発動の遅延という表現型がみられた。すなわち、DEG1 遺伝子の機能は、短日・寒冷冬眠発動のタイミングや冬眠発動そのものに重要であることが示唆された。

これらの結果を受けて、冬眠期に DEG1 機能を操作するため、DEG-1 活性を薬理的に制御し冬眠行動におけるその役割を解析した。まず、冬眠期を前冬眠 (prehibernation: preHIB)・深冬眠 (deep torpor: DT)・中途覚醒 (periodic arousal: PA) の 3 群に分け、体温調節中枢の視床下部組織における DEG-1 mRNA およびタンパク質を同一組織から抽出しその発現量を解析した。DEG-1 mRNA は中途覚醒期にのみ有意に減少したが、タンパク質は mRNA とは異なり深冬眠期にのみ有意に減少することが明らかとなった (図 2)。次に、DEG-1 発現量と体温との関連性を検討した。冬眠導入時の低体温誘導に関連するアデノシン A₁ 受容体のアゴニストを側脳室より投与し寒冷環境下で擬似冬眠を誘導したところ、DEG-1 mRNA は変化しなかったがタンパク質の有意な減少が認められた。さらに、この DEG-1 タンパク質発現量変化は温熱的中性域では誘導されないこと、また、DEG-1 活性は体温制御に影響を与えないことから、体温低下に伴う発現量変化であることが明らかとなった (図 3)。一方、冬眠中および中途覚醒時のハムスターに DEG-1 アゴニスト/アンタゴニストを側脳室より投与し冬眠行動への影響を検討したが、これまでのところその影響は認められていない。今後、直接的に遺伝子機能を操作するなどの検証が必要である。

以上一連の成果は、これまで個体レベルでの機能解析がほぼ不可能だった哺乳類の冬眠研究に、遺伝学的手法を導入することで、冬眠発動に関わる遺伝子を機能的に同定した初の事例として大きな意義があると言える。更なる研究により、その制御機構解明が期待される。

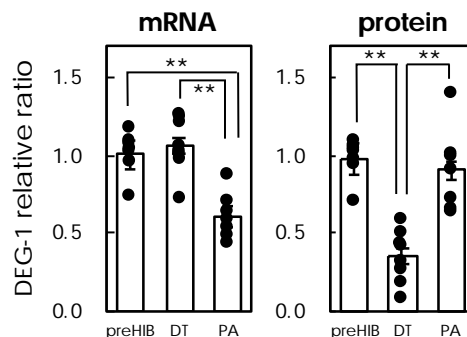


図 2. 冬眠サイクルにおける DEG1 mRNA および protein の発現レベル

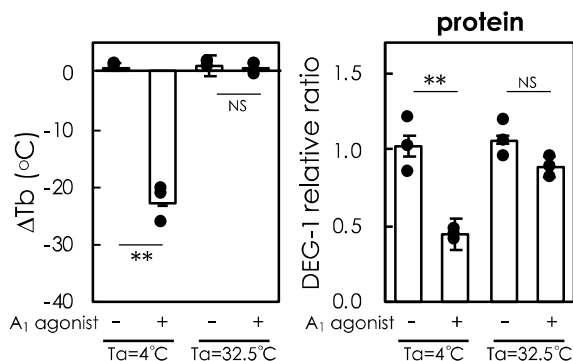


図 3. 低体温が DEG1 protein の減少を誘導する

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Anegawa Daisuke, Sugiura Yuki, Matsuoka Yuta, Sone Masamitsu, Shichiri Mototada, Otsuka Reo, Ishida Noriko, Yamada Ken-ichi, Suematsu Makoto, Miura Masayuki, Yamaguchi Yoshifumi	4. 巻 4
2. 論文標題 Hepatic resistance to cold ferroptosis in a mammalian hibernator Syrian hamster depends on effective storage of diet-derived α -tocopherol	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 796
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02297-6	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 中川 哲, 山口 良文	4. 巻 85
2. 論文標題 冬眠モデル哺乳類としてのゴールデンハムスター	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 LABIO21	6. 最初と最後の頁 5-8
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 139(5)
2. 論文標題 冬眠する哺乳類に学ぶ一代謝変化により飢餓・寒冷を乗り切る仕組み（前編）	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 臨床栄養	6. 最初と最後の頁 628-632
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 139(6)
2. 論文標題 冬眠する哺乳類に学ぶ一代謝変化により飢餓・寒冷を乗り切る仕組み（後編）	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 臨床栄養	6. 最初と最後の頁 748-752
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 Yoshimatsu Sho, Yamazaki Atsushi, Edamura Kazuya, Koushige Yuko, Shibuya Hisashi, Qian Emi, Sato Tsukika, Okahara Junko, Kishi Noriyuki, Noce Toshiaki, Yamaguchi Yoshifumi, Okano Hideyuki	4. 巻 64
2. 論文標題 Step by step protocols for non viral derivation of transgene free induced pluripotent stem cells from somatic fibroblasts of multiple mammalian species	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development, Growth, and Differentiation	6. 最初と最後の頁 325 ~ 341
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12798	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 曽根 正光、山口 良文	4. 巻 81
2. 論文標題 冬眠哺乳類の細胞はいかにして低温ストレスに対処するか？	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 低温科学	6. 最初と最後の頁 159 ~ 172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14943/lowtemsci.81.159	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 渡邊正知、田村豊	4. 巻 81
2. 論文標題 シリアンハムスターの冬眠を制御する中枢神経機構	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 低温科学	6. 最初と最後の頁 149-158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14943/lowtemsci.81.149	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13件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 4件)

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機構へのアプローチ
3. 学会等名 日本実験動物学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠動物が示す低温誘導性フェロプトーシス様細胞死への耐性
3. 学会等名 日本酸化ストレス学会（招待講演）
4. 発表年 2021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のフェロプトーシス様低温誘導性細胞死への耐性とそのビタミンE依存性
3. 学会等名 日本Cell Death学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 Diet- and hibernation season- dependent enhancement of hepatic cold resistance in a mammalian hibernator Syrian hamster
3. 学会等名 Sapporo Symposium 2021（招待講演）
4. 発表年 2021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冬眠時に示す骨格筋変化
3. 学会等名 日本体力医学学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 A mammalian hibernator Syrian hamster exhibits hepatic cold resistance with the aid of superior ability in retaining vitamin E
3. 学会等名 The 43th annual meeting of Molecular Biology Society of Japan (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 モデル冬眠哺乳類シリアンハムスターから迫る哺乳類の冬眠を可能とする分子機構
3. 学会等名 日本生理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yamaguchi Y
2. 発表標題 Hibernator's hepatic cold resistance requires a diet-derived nutrient.
3. 学会等名 nutrient. The 43rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Kobe, Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口良文
2. 発表標題 冬眠する哺乳類が示す低温誘導性細胞死への耐性
3. 学会等名 第一回細胞死コロキアム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 A food-storing facultative hibernator Syrian hamster as a model animal to comprehend the mysteries of mammalian hibernation from genetic and physiological aspect
3. 学会等名 Seminars at Wilhelminenberg Summer 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中川哲、山口良文
2. 発表標題 冬眠に依存した体温概日リズムリセット機構の発見
3. 学会等名 第17回日本生理学会環境生理プレコンgres
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中川哲、山口良文
2. 発表標題 Identification of hibernation-induced resetting of the circadian body temperature rhythm in Syrian golden hamster
3. 学会等名 第100回日本生理学会 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshifumi Yamaguchi
2. 発表標題 Autorecovery from hibernation period in Syrian hamsters involves a resetting of circadian body temperature rhythms
3. 学会等名 第100回日本生理学会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 山口良文 他	4. 発行年 2023年
2. 出版社 低温科学研究所	5. 総ページ数 205
3. 書名 低温科学第81巻 動物の寒冷適応戦略 生理生態と分子機構	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>冬眠哺乳類の低温耐性にビタミンEが関わることを発見～臓器移植・臓器保存への貢献に期待～ https://www.hokudai.ac.jp/news/2021/06/post-860.html</p>

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
研究分担者	渡邊 正知 (WATANABE masatomo) (30306203)	福山大学・薬学部・准教授 (35409)	

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		
米国	Yale University		