

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22465

研究課題名（和文）絶食による休眠誘導の神経回路の同定と人工冬眠の誘導

研究課題名（英文）Identification of neural circuits for induction of torpor and induction of artificial hibernation

研究代表者

桜井 武（Sakurai, Takeshi）

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：60251055

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：マウスの視床下部の一部の小領域（前腹側脳室周囲核 = AVPe）に存在し、神経ペプチドQRFP遺伝子を発現する約800個あまりのニューロンからなる神経細胞集団（Qニューロン）を特異的に興奮させると、体温が数日間に渡って環境温度付近まで大きく低下し、併せて代謝も著しく低下することを明らかにした。この状態は様々な点で冬眠動物にみられる冬眠に酷似していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非冬眠動物に冬眠様状態を誘導できることを示したこの発見は体温制御・代謝制御の新たな機構の発見という生物学的に大きな意義をもつものである。また、今後Qニューロンに発現する遺伝子の網羅的解明に伴い、その活動を制御する薬物などの開発に資するものである。このような薬物などにより、Qニューロン活動を人為的に操作させる技術が開発された場合、ヒトの人工冬眠が現実味を帯びてくることを示した。

研究成果の概要（英文）：When a population of about 800 neurons expressing the neuropeptide Qrpf gene in the anterior ventral periventricular nucleus (AVPe) of the mouse hypothalamus was specifically excited, body temperature dropped significantly to near ambient temperature for several days, and metabolism also decreased significantly. In many respects, this state closely resembles hibernation seen in hibernating animals.

研究分野：神経科学

キーワード：休眠 冬眠 視床下部 体温調節

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

一部の哺乳類は冬季などに飢餓から生き延びるため基礎代謝を低下させるために低体温を維持し、エネルギーを節約する生存戦略をとる。冬眠と呼ばれる状態である。冬眠中の動物は非活動状態となり基礎代謝が低下し、種々の生命機能は大幅に低活動になり、その状態がしばらく維持され何らの障害なく回復(復温)する。このメカニズムは生理学的にも非常に興味深いものの、冬眠動物そのものを使用しなければ研究ができないため、研究の進展が妨げられていた。冬眠動物は酸素及びエネルギー消費を大幅に抑えながら、自然界における過酷な環境を生き延びることが出来る。

一方、重篤な外傷や急性疾患では呼吸・循環動態の不全のため、全身組織に需要を満たすだけの酸素を供給できなくなり、重篤な組織障害をきたすことが多い。特に脳は酸素需要が高いため、致命的なダメージを負いがちである。そのために救急搬送は一刻を争い、搬送時間の遅延は救命率の大幅かつ急速な低下に直結する。もし、冬眠様の状態を誘導し、全身の代謝を下げることであれば、酸素需要自体を減らすことが可能となり、救急医療をはじめ、さまざまな臨床医療において、革命的な変革をもたらす可能性がある。脳外傷などの際外部からの冷却や血液の冷却による低体温療法はこれまでも試みられてきた。低体温自体がもたらす組織障害をはじめ多くの問題が残されており、深い低体温を長く維持することは困難である。

一方、冬眠動物は、長期にわたり安定して低体温・低代謝状態を維持することができ、なんらの障害なく自律的に回復する。その間、筋萎縮・骨量低下も見られない。もし、非冬眠動物である人類に冬眠様の安定した低代謝状態を誘導できれば救急医療のみならずその応用範囲とメリットは計り知れない。

### 2. 研究の目的

動物は生存に必要な食物を常に確保できるとは限らない。そのため、飢餓状態に対応する機能をもっている。一部の哺乳類は冬季などに飢餓から生き延びるため、基礎代謝を能動的に低下させ、低体温を維持し、エネルギーを節約する生存戦略をとる(Geiser, *Curr Biol.* 2013)。この能動的な低代謝・低体温状態は、数ヶ月におよぶ冬眠、数時間程度であると休眠(日内休眠)と呼ばれる。冬眠・休眠中の動物は非活動状態となり基礎代謝が低下し、さまざまな生命機能は大幅に低活動になるが、冬眠・休眠が終了するとなんら機能の障害を残さずに回復する。

マウスは15-16時間以上の絶食により能動的な低代謝状態を示す。日内休眠中のマウスはほとんど動かないが、睡眠時と全く異なる、体を丸めて座っているような特有な姿勢をとり、体温は30度前後まで低下する。基礎代謝が下がり、自発運動量も減るため絶食にともなう低栄養状態にしばらくの間対応できる。この状態を制御するためには低栄養状態を検知し、自律神経系、内分泌系および体温調節機構に影響を与え、能動的に低代謝をもたらす機構があるはずである。しかしながらその神経科学的メカニズムは全く解明されていない。冬眠や日内休眠のメカニズムはヒトを含む哺乳類に普遍的に存在する可能性もある。将来、医療の分野においても応用可能な現象である可能性も高い。本研究ではその未知の神経科学的メカニズムを明らかにする。

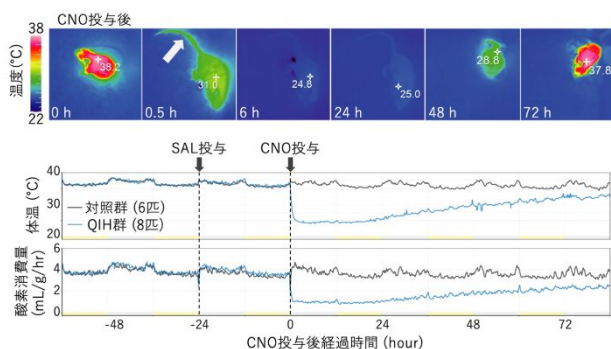
### 3. 研究の方法

QRFPはオーファンG蛋白質共役型受容体GPR103の内因性リガンドとして、研究代表者らを含む複数のグループにより同定された新規神経ペプチドである。代表者らは、QRFPニューロンの機能を解析するため、QRFPニューロンに特異的にCre組み換え酵素を発現するQRFP-iCreマウスを作製した。QRFP-iCreをfloxed-tdTomato(tdT)あるいはfloxed-hM3Dq(M3)と交配させ3種類のマウス群を用意し薬理遺伝学実験に用いた。また、Cre依存的なAAVを用いて、hM3DqやSSFOを脳内に投与し、薬理遺伝学または光遺伝学実験に用いた。

### 4. 研究成果

QRFPニューロンのDREADDによる興奮は、日内休眠というよりもむしろ冬眠に酷似した劇的かつ長時間にわたる持続的な低体温を誘導することが明らかになった。低体温状態のM3マウス群は身体を丸める姿勢をとり非活動状態を示した。これらは休眠中のマウスの姿勢に酷似していた。また、この時、QRFPが欠損マウスも低体温を示したため、この休眠状態はQRFPペプチドそのものではなく、QRFPニューロンの機能によることが明らかになった。しかもマウスは1-2日低体温状態を続けたのち、なんらの障害なく回復した。マウスの視床下部の一部の小領域(前腹側脳室周囲核, AVPe)に存在し、神経ペプチドQRFP遺伝子を発現する神経を特異的に興奮させるとマウスの体温が数日間に渡って大きく低下し、併せて代謝も著しく低下することを明らかにした(Takahashi et al., *Nature* 2020)(図1)。この状態は驚くべきことに様々な点で冬眠動物にみられる冬眠に酷似していた(図2)。非冬眠動物に冬眠様状態を誘導できることを示したこの発見は体温制御・代謝制御の新たな機構の発見という生物学的に大きな意義をもつだけでなく、今後ヒトQニューロンの活動を人為的に操作させる技術が開発された場合、ヒトの人工冬眠が現実味を帯びてくることを示したものである。この冬眠様状態の誘導に参与する神経集

団をQ神経 (Quiescence-inducing neurons=休眠誘導神経) Q神経が興奮することにより生じる低代謝をQIH (Q neuron-induced hypometabolism) と名付けた。薬理遺伝学的にQIHを導入したのち、マウスは、36時間にわたり食物を食べず、ほとんど動かなかった。排尿・排便もみられず、体温及び酸素消費量は大きく低下し、さまざまな生理機能が大きく低下し仮死状態に近いと考えられた。しかしQIHを経ても行動試験、各組織の病理試験により異常はなく、マウスが死亡した例は存在せず、全例が一週間ほどで自発的に回復した。この状態にはセットポイント温度の低下を伴っており、従来の常識を覆す画期的な発見である。



( 図 1 ) Q I H の体温・酸素消費量 (上) Q神経を特異的に興奮させると体表温度が外気温近くまで低下する(外気温は23 に固定)。(下) Q神経を特異的に興奮させQ I Hを誘導した時の体温及び酸素消費量の経時的変化。CNO投与直後には尾の温度上昇がみられ、能動的に放熱をおこして急速な体温低下に寄与している様子も見られる ( )

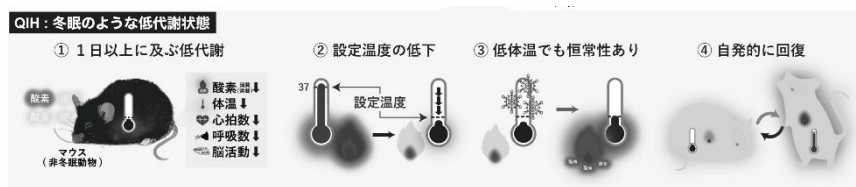


図2 QIH の特徴

5. 主な発表論文等

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

|  |                        |
|--|------------------------|
| 1. 著者名<br>Tohru M. Takahashi, Genshiro A. Sunagawa, Shingo Soya, Manabu Abe, Katsuyasu Sakurai, Kiyomi Ishikawa, Masashi Yanagisawa, Hiroshi Hama, Emi Hasegawa, Atsushi Miyawaki, Kenji Sakimura, Masayo Takahashi, Takeshi Sakurai | 4. 巻<br>in press       |
| 2. 論文標題<br>A discrete neuronal circuit induces a hibernation-like state in rodents   | 5. 発行年<br>2020年        |
| 3. 雑誌名<br>Nature   | 6. 最初と最後の頁<br>in press |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41586-020-2163-6   | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>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<br>-              |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Takeshi Sakurai                              |
| 2. 発表標題<br>Induction of Hibernation-like state in mice. |
| 3. 学会等名<br>2019第5回国際神経ペプチド学会日本支部シンポ（招待講演）（国際学会）         |
| 4. 発表年<br>2019年   |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

|                                    |                      |               |
|------------------------------------|----------------------|---------------|
| 産業財産権の名称<br>冬眠様状態を誘発する方法およびそのための装置 | 発明者<br>櫻井武、高橋徹、砂川玄志郎 | 権利者<br>同左     |
| 産業財産権の種類、番号<br>特許、2019-178611      | 出願年<br>2019年         | 国内・外国の別<br>国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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 |
|---------|---------|
|---------|---------|