

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18276

研究課題名（和文）冬眠による急性疾患の進行抑制・予後改善への挑戦

研究課題名（英文）Can hibernation delay acute illness and improve outcome?

研究代表者

砂川 玄志郎（Sunagawa, Genshiro）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：70710250

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：急性疾患は身体が必要とするエネルギーが十分に満たされないことが原因であり、近代の医療は損なわれたエネルギー供給を回復させる治療を行う。自然界では食料が不足しエネルギー供給が損なわれた際に、自らのエネルギー需要を低下させ省エネ状態になることで生存をはかる動物が存在する。そのような状態を冬眠とよぶ。冬眠を人間に応用できれば、現在の医療とは異なるアプローチで急性疾患の救命率を上げられると考えた。本研究ではマウスの冬眠様状態が複数の全く異なる急性疾患に対して抑制的・保護的に機能することを明らかにした。本研究によって人間の人工冬眠技術を開発することの大きな意義を見出したと言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人工冬眠はSFの世界ではおなじみの技術であるが、現実にはいまだ実現していない。本研究は2020年に研究代表者が開発した冬眠しないマウスを冬眠に酷似した状態に誘導できる技術を用いて、人工冬眠の臨床応用の可能性を明確に示したものである。自然界の冬眠は必ず体温低下を伴うが、本研究では体温を36度に保った状態であっても、冬眠様状態により臓器保護が可能であることを示しており、人工冬眠開発の方向性に大きな影響を及ぼしたと言える。

研究成果の概要（英文）：Acute illnesses can result from the body not receiving the necessary energy it requires, and modern medicine aims to restore this compromised energy supply through various treatments. In nature, some animals respond to a lack of food and energy by lowering their energy demands and entering an energy-saving state known as hibernation. If this hibernation state could be applied to humans, it might offer a novel approach to improving survival rates for acute illnesses, differing from current medical treatments. In this study, we demonstrated that inducing a hibernation-like state in mice can have suppressive and protective effects against various acute illnesses. This research highlights the significant potential of developing artificial hibernation techniques for humans.

研究分野：冬眠生物学

キーワード：休眠 冬眠 急性疾患 医療搬送

1. 研究開始当初の背景

(1) 応募者は 2000 年から小児科医として、特に救急医療や集中治療などの最前線で急性期医療に従事してきた。この間に末梢組織の酸素需要と供給の不均衡が患者の症状を増悪させた症例を数多く目の当たりにしてきた。そして、今日の医療が酸素供給の補強・回復が主たる目的であることの限界を感じていた。2004 年に世界で初めて冬眠をする霊長類が報告され (Dausmann et al. *Nature*, 2004)、人間の冬眠の可能性が示された。応募者は冬眠動物が能動的に基礎代謝を低下させ末梢組織の酸素需要を減らすことを鑑みると、人間に冬眠様低代謝を誘導できれば様々な臨床問題が解決できることに気づき、冬眠の臨床応用の構想を立て始めた。

(2) 2016 年にマウスにおける絶食性休眠 (FIT; fasting-induced torpor) の安定した手法を確立し、日内休眠と冬眠の共通するメカニズムについて明らかにした (Sunagawa GA & Takahashi M, *Sci Rep*, 2016)。2020 年にはマウスの視床下部における QRFP 陽性神経を興奮させることで、数日間に渡ってマウスを冬眠様低代謝に誘導できる QIH を発見し、マウスを用いた休眠研究の基礎を築いてきた (Takahashi TM, Sunagawa GA et al., *Nature*, 2020; 図 1)。

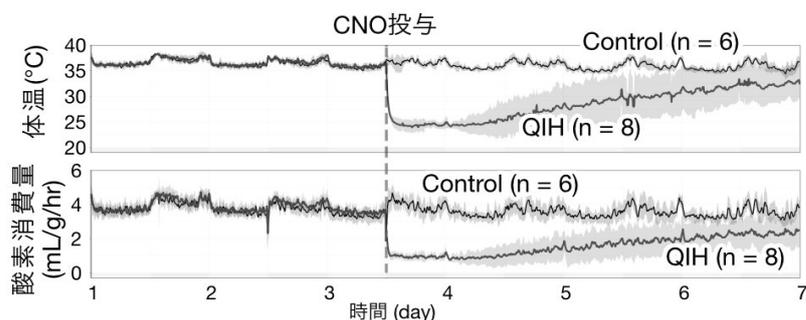


図 1 マウスを冬眠状態に誘導 視床下部の Qrfp ペプチド陽性神経を興奮させると、数日に渡る冬眠様状態を誘導できる (QIH; Q neurons--induced hypometabolism)。QIH から回復したマウスは低代謝・低体温による組織障害を受けない。任意のタイミングで低代謝誘導できることが特徴である。

(3) 健康と病的状態は代謝の観点からは、個体のエネルギー需要とエネルギー供給の不均衡で説明することができる。つまり、健康なときは個体内の臓器・組織・細胞が必要としている酸素や栄養分が十分に行き届いているが、病気になるとエネルギー需要に見合った酸素・栄養分が不足する。近代医療は、不足した酸素・栄養分を補うことを主たる目的としている。たとえば、重症肺炎は肺機能の低下により全身の臓器に対して酸素供給不足が生じる。このため、酸素投与や呼吸管理、さらには人工心肺を用いた血液の酸素化を治療として行う。しかし、障害された酸素供給を補うためには様々なリソースを要するため、治療開始が遅れると予後の悪化へつながる。一方で、自然界において個体のエネルギー需要と供給の不均衡が生じる代表例が冬季における食料不足である。一部の動物は自らのエネルギー需要を低下させることで少量不足を切り抜ける。それが休眠である。数ヶ月にも及ぶ休眠は冬眠とよばれ、基礎代謝を 1%程度にまで低下させる動物も存在する。このような天然生まれのエネルギー需要を安全に低下させる技術を人間に応用できれば、現在の医療とは全く異なるアプローチで急性疾患の救命率を挙げられると考えた。これまで、低体温によって患者の代謝を低下させることは試みられてきたが、近年、低体温療法は副作用の多さから限られた疾患にしか使用されなくなっている。休眠の本質は低代謝であり低体温ではない。体温を下げることなく、末梢組織の酸素需要を冬眠のように安全に低下させるという低代謝医療を創生したい。低代謝医療はこれまでの医療と衝突することなく、より品質を向上させられると確信している。本課題では、低代謝医療の概念実証として動物疾患モデルにおける冬眠の治療効果を検証するものである。

2. 研究の目的

一部の哺乳類は自ら基礎代謝を低下させ、飢餓・冬季といったエネルギー供給が乏しくなる状況乗り越える。このような能動的な低代謝を休眠 (torpor) とよび、低代謝の期間によって冬眠 (hibernation; 数ヶ月) や日内休眠 (daily torpor; 数時間) に分類する。休眠中の個体は正常時と比べて酸素消費量が 1~30%程度にまで低下する。休眠中は体温が低下するが、低体温による化学反応速度の低下だけでは酸素消費量を説明できない。また、休眠中は低代謝ながら組織・細胞が低酸素性障害を受けず、休眠から回復すると正常に機能できる (図 2)。このような低代謝耐性は臨床に大きく寄与しうる。事実、心筋梗塞、重症肺炎、出血などの急性疾患の最大の死因は末梢組織における酸素の需要と供給の不均衡にあり、治療開始までの時間が予後を左右する。臨床現場で休眠中にみられる低代謝耐性を患者に付与できれば、これまで致命的であった急性疾患の予後を劇的に改善しうる。

3. 研究の方法

本研究ではマウスにおいて冬眠様低代謝によって疾患の進行が遅延できるか検証する。そのために、*Qrfp* 遺伝子に *Cre* リコンビナーゼをノックインしたマウスの視床下部にアデノ随伴ウイルス (AAV) をベクターとして、*Cre* 依存性に改変された M3 ムスカリン性アセチルコリン受容体を発現させたマウス (以下、Q-M3 マウス) を用いる。Q-M3 マウスはクロザピン-N-オキシド (CNO) を腹腔内投与することで冬眠様状態 (QIH; Q neurons-induced hypometabolism) に誘導できる (図2)。生命予後を動物で評価する場合、体重測定を行い一定の減少が見られた時点を終点とすることが一般的であるが、本研究では体重測定に加えて個体の酸素消費量も計測するため、より精緻な全身状態の評価が可能である。

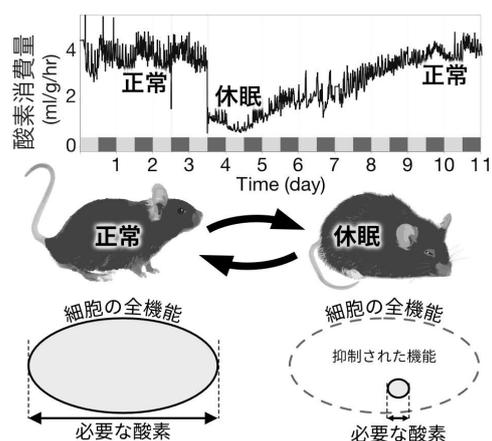


図2 休眠動物は酸素消費量が減る 休眠時の動物は酸素消費量が低下するが、細胞が障害を受けることなく回復する。細胞の機能が抑制されることで、酸素消費量が低下すると考えられているが原理はわかっていない。「少ない酸素で生きている」とも言える。

(1) 急性腎機能障害に対する低代謝の予後改善効果の評価

急性腎不全が続くと腎機能の低下に伴う体液恒常性・電解質恒常性の破綻により呼吸機能・心機能の低下が生じ死に至る。しかし、全身代謝を低下させることで、本来であれば腎臓で処理されるべき水分・代謝産物・電解質の産生が減ることが予想されるため、冬眠によって急性腎不全に伴う心肺機能低下の進行は遅延できると考えられる。そこで、Q-M3 マウスへ対して腎基部クランプ法を用いて急性腎不全をおこし (Wei J, *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019)、無加療群と QIH 誘導群の予後の違いを観察する。両側腎基部を完全クランプ (結紮などで血流を完全に途絶させること) によってマウスは数日以内に死に至るが、30 分の腎基部クランプだと 2 週間をかけて腎機能が低下していくため、QIH の有無によって急性炎症の進行がどのように変化するか組織学的・血清学的に検証を行う。

(2) 敗血症に対する低代謝の予後改善効果の評価

敗血症は感染による全身的炎症反応であり、放置されると免疫系の過剰反応によりショック、多臓器不全などを生じ、最終的には死に至る。免疫系を含めた全身の代謝を低下させることができれば、炎症の増悪を抑制できると予想されるため、冬眠によって敗血症の進行が緩徐化出来る可能性がある。そこで、Q-M3 マウスへ対して盲腸結紮穿孔による敗血症性腹膜炎モデルを作成し (Remick DG, *Shock*, 2000)、無加療群と QIH 誘導群の間でどのように予後が変わるか、生存率ならびに血清学的検査、遺伝子発現を用いて評価する。

(3) 重症肺炎に対する低代謝の予後改善効果の評価

重症肺炎は肺における換気不全が原因で全身への酸素供給不足を生じ、最終的には呼吸機能不全が原因で死に至る。肺炎の中には COVID-19 のように肺炎が病状の一部であることもあるが、呼吸機能を維持できなければ致死的事であることは議論を待たない。典型的な酸素需要と供給の不均衡であるため、今日行われている積極的な酸素供給補助療法 (酸素投与、呼吸管理、人工心肺など) に加えて、冬眠による末梢組織の酸素需要低下が有効であると考えられる。そこで、Q-M3 マウスへ対してマウス化インフルエンザウイルス (A/California/04/2009 株を予定) を吸入させ肺炎モデルマウスを作成し (Smee DF, *Antimicrob Agents Chemother*, 2012)、無加療群と QIH 誘導群の生命予後が変わるのか、生存率、ウイルスの増加率、肺炎の組織学的・血清学的評価、遺伝子発現などを用いて評価する。

(4) 炎症に対する冬眠の影響の評価

自然界における冬眠は、数ヶ月に渡る低温・低代謝という慢性的なストレス環境にさらされているだけではなく、数日に 1 回の復温を繰り返すために、再灌流障害への抵抗性も備わっていると考えられている。このようなストレス耐性を有する冬眠状態には炎症に対する抵抗性が備わっていると仮説を立て、先に挙げた病態の異なる 3 つの疾患モデルに共通する抗炎症作用を確認することで検証する。具体的には、それぞれの疾患モデルの主たる炎症臓器にて自然経過群と QIH 群の間の各種炎症マーカーの比較や炎症関連細胞特異的な遺伝子発現解析の比較を行い、炎症の特性に変化が生じていないか検証する。

4. 研究成果

(1) 定量 PCR システムを整備し、本研究に必須となるアデノ随伴ウイルス (AAV) の製造ラインを確立し、冬眠様状態 (QIH; Q neurons-induced hypometabolism) を誘導できるマウス (Q-M3 マウ

ス)を安定供給できる体制を整えた。

(2) 敗血症に関しては、Q-M3 マウスへ対して盲腸結紮穿孔による敗血症性腹膜炎モデルを作成し、QIH 誘導により生存時間が延長することを確認した。生化学的検査によって炎症の進行も遅延していることが確認できた。さらに、既存の治療、すなわち抗菌療法や容量負荷治療と組み合わせるとさらに効果が增強することがわかった。

(3) 急性腎不全は腎機能の低下に伴い体液恒常性・電解質恒常性が破綻し、呼吸機能・心機能の低下が生じ死に至る。急性腎不全の代表的な原因は腎臓の虚血である。臨床において大血管置換術を行う際に避けられないか大動脈クランプは一時的な腎虚血を生じるが、全身麻酔下にある患者の体温を低下させることで腎機能障害を防いでいる。そこで、Q-M3 マウスへ対して全身麻酔下にて下大動脈クランプを行い、QIH 誘導群と非誘導群の予後を比較した。さらに、全身麻酔下にあるため体温コントロールが可能であることから、QIH の有無とは独立に、体温を 36 度前後に維持する群と、22°C 前後に冷却する条件を加えて比較した。QIH の有無に関わらず、体温を低下させた群は腎障害を予防できるという結果を得た。また、体温が 36°C 前後であっても QIH が誘導されていると、腎障害が予防できた。つまり、温かい冬眠が虚血に有効であることがわかった (Kyo S, et al., *JTCVS Open*, 2022, 図 3)。

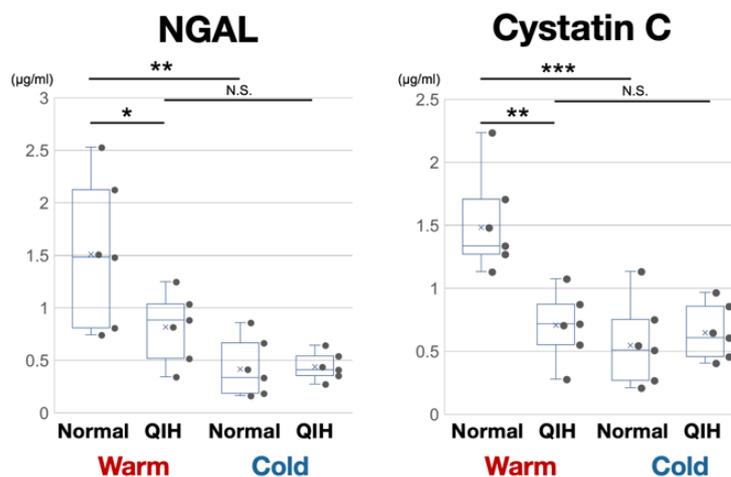


図 3 虚血性腎障害は冬眠様状態により軽減される 全身麻酔下のマウスを用いた下行大動脈クランプによる虚血性腎障害モデルにおいて、冬眠様状態は低体温と同様に虚血性障害の保護効果があることが確認された。さらに、加温によって体温を 36 度に維持した状態であっても、冬眠様状態を誘導することで虚血性障害が軽減されることが確認された。いわゆる「温かい冬眠」であっても、虚血へ耐性があることは、低温のみならず、低代謝（酸素需要の低下）が冬眠様状態による臓器保護に重要であることを示している。

(4) 本研究により、冬眠様状態が 2 つの全く異なる急性疾患へ対して抑制的に機能することが明らかとなった。既存の治療法とは全く原理が異なるため、人間の人工冬眠技術を開発することの大きな意義を見出したと言える。

<引用文献>

1. Sunagawa GA, Takahashi M. Hypometabolism during Daily Torpor in Mice is Dominated by Reduction in the Sensitivity of the Thermoregulatory System. *Sci Rep*. 2016;6: 37011.
2. Takahashi TM, Sunagawa GA, Soya S, Abe M, Sakurai K, Ishikawa K, et al. A discrete neuronal circuit induces a hibernation-like state in rodents. *Nature*. 2020;583: 109–114.
3. Kyo S, Murata K, Kawatou M, Minatoya K, Sunagawa GA, Masumoto H. Quiescence-inducing neurons-induced hypometabolism ameliorates acute kidney injury in a mouse model mimicking cardiovascular surgery requiring circulatory arrest. *JTCVS Open*. 2022;12: 201–210.

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kyo Shoichi, Murata Kozue, Kawatou Masahide, Minatoya Kenji, Sunagawa Genshiro A., Masumoto Hidetoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Quiescence-inducing neurons-induced hypometabolism ameliorates acute kidney injury in a mouse model mimicking cardiovascular surgery requiring circulatory arrest	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JTCVS Open	6. 最初と最後の頁 201 ~ 210
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xjon.2022.11.001	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 該当する

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Genshiro A. Sunagawa, Hidetoshi Masumoto
2. 発表標題 A warm hibernation can protect organs from ischemia
3. 学会等名 第100回日本生理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Genshiro A. Sunagawa, Hidetoshi Masumoto
2. 発表標題 Warm hibernation enabled: revolutionizing hibernation research with QIH
3. 学会等名 BDR Symposium 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Genshiro A. Sunagawa
2. 発表標題 Suppressing Sepsis Progression by A Hibernation-like State
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Genshiro A. Sunagawa
2. 発表標題 Toward clinical application of torpor
3. 学会等名 第48回神経内分泌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Genshiro A. Sunagawa
2. 発表標題 冬眠様状態による敗血症の進行抑制
3. 学会等名 第25回日本脳低温療法・体温管理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Genshiro A. Sunagawa
2. 発表標題 Can Hibernation Save Lives in Emergency Medicine?
3. 学会等名 NEURO2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 砂川玄志郎
2. 発表標題 Can torpor delay disease progression?
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 砂川玄志郎
2. 発表標題 Can torpor delay disease progression?
3. 学会等名 第44回 分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 砂川玄志郎
2. 発表標題 Toward clinical application of torpor
3. 学会等名 第94回日本生化学学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 砂川玄志郎
2. 発表標題 人工冬眠へ向けて; 非冬眠動物における冬眠様状態の誘導
3. 学会等名 日本宇宙生物科学会第35回大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 砂川玄志郎
2. 発表標題 The physiological aspects of Q neurons-induced hypometabolism (QIH)
3. 学会等名 The 16th International Hibernation Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------