

研究報告書

「冬眠を可能とする生体状態の可視化とその誘導メカニズムの解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 24 年 10 月～平成 28 年 3 月

研究者: 山口 良文

1. 研究のねらい

冬眠は、寒冷かつ餌の枯渇といった極限環境を、代謝活動を劇的に減少させ低体温状態で乗り切る現象である。哺乳類の中には、食物の枯渇する厳しい冬を代謝を低下させ低体温状態で乗り越える事の出来る、リスやクマ、ハムスターをはじめとした、冬眠する哺乳類が存在する。彼らは、巣穴の中で寝たきりでも筋肉・骨がそれほど衰えない「寝たきり耐性」や、秋に蓄えた脂肪を効率的にエネルギーに変えられる「健康肥満」など、冬眠しない哺乳類には見られない驚くべき能力を備えている。しかし、冬眠できる哺乳類と、私たちヒトを含む多くの冬眠出来ない哺乳類との差は何なのか、未だほとんど不明である。本研究の狙いは、冬眠制御に重要な脳中枢と末梢臓器との相互作用という観点から、冬眠可能な生体状態の実体を最新の解析技術を用いて解明し、その制御機構に迫ることである。具体的には、リスやクマなどの冬眠動物も一年中冬眠できる状態にあるのではなく、夏の終わりから冬にかけて季節性に体を冬眠仕様すなわち「冬眠可能状態」へと全身的に変化(リモデリング)するという事実に着目し、この「冬眠可能状態」の実体解明(可視化)とその誘導機構の解明を目指す。こうして得られる知見は、冬眠動物がしめす季節性生体システム変化機構を明らかにする点で生物学的に興味深いだけでなく、虚血再灌流障害予防、糖尿病予防、廃用筋萎縮予防、冬期うつ症の理解など、さまざまな医学的応用も期待される。

2. 研究成果

(1)概要

哺乳類の中には、食物の枯渇する厳しい冬を代謝を低下させ低体温状態で乗り越える事の出来る、リスやクマ、ハムスターをはじめとした、冬眠する哺乳類が存在する。彼らは、巣穴の中で寝たきりでも筋肉・骨がそれほど衰えない「寝たきり耐性」や、秋に蓄えた脂肪を効率的にエネルギーに変えられる「健康肥満」など、冬眠しない哺乳類には見られない驚くべき能力を備えている。しかし、リスやクマなどの冬眠動物も一年中冬眠できる状態にあるのではなく、夏の終わりから冬にかけて季節性に体を冬眠仕様すなわち「冬眠可能状態」へと全身的に変化(リモデリング)させることが、これまでの研究から示唆されていた。しかし、この「冬眠可能状態」がどのようなものか、またいかにして誘導されるのか、未だ殆ど解明されていない。

これらの点を解明すべく、私たちは、シリアンハムスターを用いて研究を行った。シリアンハムスターは環境条件を変えることで実験室での人為的冬眠誘導が可能な、数少ない冬眠実験モデル哺乳類である。しかし、リスやクマと同様に「冬眠可能状態」への季節性リモデリングが生じるかについては不明であった。そこでまず、私たちは安定した冬眠誘導系を立ち上げ、冬眠可能状態への変化過程で生じる全身性変化の解明を行った。その結果、これらの動物

では深冬眠誘導に必要な体重の閾値があること、さらに冬眠に先駆けて前冬眠期に基礎体温が低下することを明らかにした。次にこれらの知見を活用し、冬眠誘導において重要な役割を担うと目される、脂肪組織、肝臓、脳など複数の臓器について次世代シーケンサー解析を行い、冬眠可能状態で発現変動する遺伝子経路を多数同定した。さらに、これらの変化は長期間の短日寒冷刺激により前冬眠期に冬眠に先駆けて上昇することを経時的発現解析から明らかにした。これらの成果は、シリアンハムスターが冬眠可能状態への季節性リモデリング機構を解明するうえで有用なモデル動物となることを示すだけでなく、冬眠可能状態の実現に重要なシグナルおよび組織間相互作用を同定していく上で礎となる重要な知見といえる。

(2) 詳細

研究成果1: 前冬眠期に体をリモデリングする過程で生じる生理現象の解明

条件的冬眠動物であるシリアンハムスターは、ジリスやヒグマなどの内因性年周リズムが冬であることが冬眠のための必須条件である義務的冬眠動物と異なり、短日寒冷下での飼育により冬眠誘導が通年可能である。しかし、シリアンハムスターにおいても、短日寒冷移行から実際の冬眠誘導までには数ヶ月を要することから、この間に全身状態が冬眠不能状態から冬眠可能状態へとリモデリングされると予想された。そこでまず、食餌や飼育条件の検討により、安定した冬眠誘導系を構築した。これらの過程で、以下の点を見出した。1) 長期短日寒冷飼育により、基礎体温値の漸進的低下が生じ、初回の深冬眠誘導時に最低値となる。さらに、この基礎体温値は深冬眠-中途覚醒の繰り返しにより上昇する。最終的には、自発的に冬眠を終了したリフラクトリ個体において、短日寒冷飼育誘導直後の基礎体温値に戻る。2) 深冬眠が確認された個体は、いずれも体重が 130g より少なくなっていた。すなわち、深冬眠誘導には、体重の閾値があった。これらの結果は、シリアンハムスターの冬眠可能状態には、基礎体温値の設定変更機構と生体内の備蓄エネルギーを何らの形でセンシングする機構とが関与することを示唆する重要な知見である(Chayama et al., in press)。

研究成果2: 冬眠可能状態に特徴的な遺伝子発現パターンの同定

次に、冬眠可能状態を遺伝子発現から記述し可視化することを試みた。短日寒冷飼育下で深冬眠状態および中途覚醒状態の個体を冬眠可能状態、長日常温飼育下の個体を冬眠不能状態、短日寒冷飼育下に長期間置かれたにも関わらず冬眠していない体重の重い個体を冬眠不能状態から冬眠可能状態への遷移過程の個体と見なして、次世代シーケンサーによる遺伝子発現比較解析を冬眠制御に重要と目される複数の臓器について行った。その結果、冬眠可能状態に特異的に発現する遺伝子群を同定し、冬眠可能状態の遺伝子発現レベルでの解明に成功した(未発表データ)。

3. 今後の展開

本研究により同定した、冬眠可能状態特異的遺伝子発現パターンの冬眠における意義の解明を行う。これと並行して、それら遺伝子発現パターンを指標として、夏の冬眠不能状態の個体に、冬眠可能状態を誘導する分子機構を同定していく。具体的には、基礎体温調節機構、肝臓・白

色脂肪組織・骨格筋・脳視床下部・脳幹の変化に注目する。これらの研究を通じて、長期的には、そこで同定した分子機構を増強または減弱させることにより、冬眠動物の備える冬眠耐性能を非冬眠動物に一部なりとも賦与することを目指す。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

研究目的の達成状況:

本さがけ研究では、冬眠可能な生体状態の分子実体を解明し、さらにその誘導機構に迫ることを目指した。その結果、これまで全く不明であった、シリアンハムスターの冬眠可能状態に特異的な遺伝子発現パターンを、エネルギー代謝・全身恒常性制御に重要な臓器ごとに解明することに成功した。さらにそれら冬眠可能状態特異的遺伝子発現群の中から、前冬眠期に冬眠にさがけて発現上昇する複数の遺伝子の同定にも成功した。これらの点から、冬眠可能状態の分子実体をまず記述する、という当初の目的については十分に達成できたといえる。一方、冬眠可能状態へと変化した個体を深冬眠誘導前に実際に「見分ける」手法の開発と、冬眠可能状態の誘導機構の同定については、完了にはもうしばしの時間を要する。しかし、研究自体は上述した知見を礎として順調かつ着実に進展しているといえる。

研究の進め方:

要所所で適切な方向付けが行えたため、順調に進展したといえる。具体的には、冬眠誘導用の専用低温室をさがけの予算により作成し安定した冬眠導入系の確立が行えたこと、ゲノム配列読みの未完成であるシリアンハムスターを用いて遺伝子発現解析を行うために、非モデル生物における次世代シーケンサー解析の専門家と共同研究を開始したこと、さらに領域内の多様な研究者間の活発な交流により、適切な解析技術・実験手技・研究の視座が得られたことで、等が挙げられる。これらにより当初想定していた以上のデータを得る事ができている。

研究成果の波及効果: 本研究により明らかになった冬眠可能状態に特異的遺伝子発現パターンは、冬眠動物が備える「健康肥満」「寝たきり耐性」「虚血耐性」等の驚異的な能力の分子的基盤となっている可能性が高い。私たちはこの分子基盤の機能解析をさらに進めることで、非冬眠動物において見られるこれらの能力を非冬眠動物に賦与する手法の開発も目指している。そうした手法の開発は、高齢化社会を迎える日本をはじめ先進諸国において問題となっている高齢者の QOL の維持や、現在対症療法しかない種々の疾患に対する先進医療手段としての活用も大きく期待される。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

本研究課題は、冬眠制御に重要な脳中枢と末梢臓器との相互作用という観点から、冬眠可能な生体状態の実体を最新の解析技術を用いて解明し、その制御機構に迫ることであり、具体的には、シリアンハムスターを用いて安定した冬眠誘導系を立ち上げ、冬眠可能状態への変化過程で生じる全身性変化の解明を行った。その結果、前冬眠期に冬眠に先駆けて上昇する多数の

遺伝子経路を経時的発現解析から明らかにした。今後は、これら遺伝子発現パターンの冬眠における意義およびその分子機構が明らかにされることが期待される。冬眠については、これまで遺伝子解析できるモデル動物がなかったことから、新たな研究領域を切り拓く研究として本研究の成果は重要と考えられる。

研究費は、当初計画よりは250万円の増額をしたものの、総額は3900万円で研究を実施することができた。

本研究課題の成果により、冬眠という新たな切り口からの生体における動的恒常性の維持・変容機構の理解が進むことにより、虚血再灌流障害予防、肥満・糖尿病予防などに対するさまざまな新たな治療戦略の確立に貢献することが期待される。

本研究者は、論文発表は1件と少ないが、多くのさきがけ研究者との共同研究にも発展しており、今後の活躍が十分に期待される。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Chayama, Y., Ando, L., Tamura, Y., Miura, M., Yamaguchi, Y. Decreases in body temperature and mass constitute pre-hibernation remodelling in the Syrian golden hamster, a facultative mammalian hibernator. *R Soc Open Sci.* 2016, *in press*

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

1. **山口良文**. 哺乳類の代謝が劇的に変わるとき～胚発生と冬眠制御. シンポジウム～先端メタボロミクスを駆使して展開する新しい代謝生物学. 2013.9.18, 東京 (招待講演)
2. **山口良文**. 哺乳類の代謝が全身性に変わるとき～胚発生と冬眠. 第7回シンフォニー. 2014. 9. 14, 東京 (招待講演)
3. Yamaguchi, Y., Chayama, Y., Ando, L., Shigenobu, S., Tamura, Y., Miura, M. Global gene expression analysis to identify molecular mechanisms that enable hibernation in mammals. The Joint conference of the 120th Annual Meeting of The Japanese Association of Anatomists & the 92nd Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, 2015.3.22, Kobe, Japan.
4. **山口良文**. 冬眠する哺乳類に学ぶ代謝制御. 脳心血管抗加齢研究会 2015 2015.11.28, 大阪 (招待講演)
5. **山口良文**. 何が哺乳類の冬眠を可能とするのか? ～前冬眠期における、冬眠のための体組織リモデリングの同定. 第38回日本分子生物学会ワークショップ「異種間比較が解き明かす生命システムの普遍性と多様性」. 2015.12.1, 神戸 (招待講演)

アウトリーチ活動

サイエンティスト・クエスト—あなたと考えるあたらしい科学とくらし「冬眠する哺乳類のスゴイ能力～健康的なゴロ寝生活！？」日本科学未来館 2015.1.24, 東京

<http://www.miraikan.jst.go.jp/event/1512281519272.html>

人間も冬眠？ 実現すれば究極のアンチエイジング法に 新しいメタボ予防法や健康長寿実現への応用も 日経グッディ（取材記事・北村昌陽氏）

<http://gooday.nikkei.co.jp/atcl/report/14/091100018/012000033/>