

氏名（本籍） 高橋 徹
学位の種類 博士（医学）
学位記番号 博甲第 9927 号
学位授与年月 令和 3 年 3 月 25 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科 人間総合科学研究科
学位論文題目 A discrete neuronal circuit that induces a hibernation-like state in rodents

（齧歯類を冬眠様状態に誘導する新規神経回路）

主査	筑波大学教授	博士（理学）	松本 正幸
副査	筑波大学教授	博士（医学）	田中 誠
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	水野 聖哉
副査	筑波大学講師	博士（理学）	梶 和子

論文の内容の要旨

高橋徹氏の博士學位論文は、齧歯類を冬眠様状態に誘導する新規神経回路について検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

冬季の寒冷や飢餓などエネルギー源が枯渇する状況に直面した際、自ら体温・代謝を低下させる能力をもつ哺乳類が存在する。この低代謝状態は休眠(torpor)と呼ばれ、低代謝期間が数時間程度の休眠は日内休眠(daily torpor)、1日を超える休眠は冬眠(hibernation)と呼ばれる。冬眠中には体温のセットポイント(設定温度)が低下している。冬眠では外気温がある程度以上低下しても、一定の水準に体温と熱産生は維持される。すなわち、冬眠は能動的に制御されている低代謝状態である。しかし、冬眠における中枢神経系の関与が報告されてはいるものの、冬眠動物が代謝を下げる機構・設定温度を低下させる仕組みは全く不明である。冬眠動物にはリス、ヤマネ、ハムスターなど齧歯類が多く含まれるが、実験に汎用されるマウスやラットは冬眠しない。しかし著者は、豊富な研究リソースをフルに活用できるマウスを用い、非冬眠動物であるマウスを冬眠状態に誘導する神経システムを同定することを目指した。

著者は、視床下部に発現する神経ペプチドQRFP(pyroglutamylated RFamide peptide)を産生する神経細胞群に着目し、Qrfp遺伝子発現細胞にCre組み換え酵素を発現するQrfp^{iCre}マウスと種々のCre依存性AAVベクター(AAV-DIO-hM3Dq-mCherryなど)を用いて、Qrfpニューロンを選択的に操作する実験系を考案し、Qrfpニューロンを操作されたマウスの表部体温、深部体温、酸素消費量(代謝)などの生理的指標を測定している。また、脳組織を主にサンプリングし、種々の染色法を用いてニューロンおよび発現する重要なマーカーを蛍光染色し、共焦点顕微鏡などを用いてイメージングしている。

著者は、視床下部視索前野 Qrfp ニューロンに人工受容体 hM3Dq を発現させ、DREADD 法を用いてこのニューロンを興奮させると、このマウスの体温 T_B と代謝（酸素消費量 VO_2 ）が長期間著しく低下し、休眠の様な低代謝状態になることを明らかにしている。このニューロンを Q ニューロン、誘導される低代謝状態を QIH (Q neuron-induced hypometabolic state) と名付けている。

著者は、QIH における体温制御機構を探るべく、様々な外気温を設定し QIH 中の $T_B \cdot VO_2$ の変動を観測し、QIH マウスは寒冷環境に置かれると VO_2 (代謝:熱産生) を亢進させることを見出している。これは、QIH においても体温制御システムが機能していることを示唆する。設定温度を算出したところ、QIH 中の設定温度は約 $9^{\circ}C$ 低下していることを明らかにしている。QIH マウスは他の身体的徴候（心拍数・呼吸数・脳波（脳の活動）など）も著しく低い水準を示した。QIH は 1) 体温・代謝を含む身体的徴候の長期的な著しい低下、2) 設定体温の低下、3) 機能的な体温制御システム、4) 自発的に正常状態に回復、という 4 つの特徴を満たすことが明らかにされている。この 4 条件を同時に満たす生命現象は「哺乳類の冬眠」に限られ、QIH は冬眠に類似した低代謝・低体温状態であることを明らかにしている。

著者は、QIH の詳細な神経制御機構を探るべく、Q ニューロンの軸索投射先同定を試みたところ、体温制御に重要である視床下部背内側核 (the dorsomedial hypothalamus : DMH) に特に多くの軸索を確認している。光遺伝学を用いて投射先特異的に光刺激すると、DMH 光刺激は細胞体 (AVPe) 光刺激とほぼ同等な顕著な低体温を誘導し、Q ニューロンの主要な標的神経核が DMH であることを明らかにしている。

著者は、Q ニューロンの特性を調べるため、Vgat と Vglut2 を抑制性、興奮性それぞれのマーカーとし in situ hybridization を行ない、Q ニューロンの大多数は興奮性であることを明らかにしている。次に、GABA あるいはグルタミン酸の放出を Cre 依存的に抑制する flox マウスを Qrfp iCre マウスと交配させ、Q ニューロン選択的に Vgat あるいは Vglut2 を欠損させたマウスを作製し、Q ニューロンを興奮させ T_B を観察している。これにより、Vgat 欠損群は初期の温度低下が遅いものの最終的には通常 QIH 群と同程度の低体温を示すこと、Vglut2 欠損群は数 $^{\circ}C$ 程度の体温低下が見られたものの、数時間後には正常体温に回復することを見出している。以上より、QIH 誘導・維持において Q ニューロン由来のグルタミン酸放出が不可欠であることを明らかにしている。なお、QRFP ペプチド自体は QIH 誘導には関与しないことも判明している。

著者の研究は、哺乳類の脳に存在する Q ニューロンを選択的に興奮させることで、非冬眠動物であるマウスを QIH に誘導できることを明らかにしている。この結果は、ヒトを含めた非冬眠動物にも冬眠誘導システムが保持されている可能性を示し、加えて、QIH を誘導する神経経路は、体温を下方に調節する新規神経経路であることを明らかにしている。

審査の結果の要旨

(批評)

動物を冬眠状態に誘導する中枢神経メカニズムは全く不明であったが、著者は、視床下部に発現する神経ペプチド QRFP (pyroglutamylated RFamide peptide) を産生する神経細胞群の活動を操作することにより、非冬眠動物であるマウスでさえも冬眠様状態に誘導できることを明らかにした。この成果は、冬眠のメカニズムに迫る画期的なものであると同時に、低体温・低代謝状態を維持することによって生じる様々な治療効果を検証するための臨床研究につながるものとして大きく期待できる。

令和 2 年 12 月 22 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。