

【目的】我々は、最近、視床下部前腹側脳室周囲核 (AVPe) に存在し、*Qrfp* 遺伝子を発現する少数の神経細胞群 (Q ニューロン) を操作することにより、本来冬眠を行わないマウスやラットにおいて、冬眠状態と非常によく似た、環境温度に近い低体温・低代謝状態を数日にわたり誘導することが可能であることを見出した。非冬眠動物にも冬眠様の制御された低代謝・低体温状態 (QIH) を誘導できるという知見を利用して、将来ヒトやペット・家畜などに人工冬眠を導入する技術基盤を支える生物学的知見を得ることを目的とした。

【方法】1. 研究全体の推進のため、極弱光により長期間の QIH 誘導を可能にするツールを作製した。C 末端を中心に OPN4 に改変を加えたものを数種作製し、AAV ベクターを用いて *Qrfp-iCre* マウスの AVPe に発現させ、光ファイバーを留置して QIH 誘導を行い、体温はサーモグラフィーでモニターした。系の確立後、QIH 中の体温動態および心拍数の変動をテレメトリーによりモニターし、QIH 導入および回復時の心機能の変化を明らかにした。2. Q ニューロンのターゲットニューロンの同定を目指し、Q ニューロンを興奮させたときに興奮する視床下部背内側核 (DMH) ニューロンをラベルするために、TRAP2 マウスの AVPe に *Qrfp* 遺伝子プロモーターを用いた AAV ベクターにより変異型 OPN4dC を発現させ、DMH に hM3Dq を Cre 依存的 AAV ベクターにのせて投与したのち、AVPe に留置した光ファイバーを用いて光遺伝学的に QIH を導入した。Tamoxifen 投与により、QIH 起動時に興奮したニューロンを hM3Dq にてラベルした後、CNO 投与により QIH のような低体温・低代謝状態が誘導できるか検討した。

【結果】1. 光操作をもちいた QIH 誘導法の開発: QIH 状態を高い時間分解能でオン・オフできる、光操作による QIH 誘導法を確立した。これを用いて QIH 導入および QIH からの離脱時の自律神経応答を明らかにした。OPN4 を改変したオプシン (OPN4dC) を用いて、極めて微弱な光で 24 時間にわたり QIH を操作できるようになった。このことにより、QIH 導入時だけではなく、復温時のダイナミックな生体機能の変化を測定できるようになった。QIH 導入時には心拍数の低下は体温の低下より早く観察され、復温時も、心拍数の増加が体温の上昇に先行して見られることが分かった (Takahashi et al. Cell Rep Methods, in revision)。この方法により、今後、QIH 中が睡眠だけではなく、記憶・情動などに及ぼす影響を解析できると思われる (下図)。2. Q-flp マウスの作製: 現在繁殖を行っており、Q ニューロンサブタイプの機能解析やターゲットニューロンの同定に用いる予定である。3. 10×Chromium を用いて、Q ニューロンを含む AVPe 領域の単細胞解析を行い、Q ニューロン発現遺伝子に関する情報を得た。

OPN4dC をもちいた QIH 誘導における深部体温 (上、 T_B) と行動量 (下、Act) の経時変化

