

体温の概日リズム生成機構の解明

由本 竜資 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 櫻井 武 (筑波大学 医学医療系)

背景

ほぼすべての生物は概日時計を有しており、生理現象に見られる約24時間周期のリズム(概日リズム)を制御している。

哺乳類において、この体内時計のマスタークロックは視床下部に存在する視交叉上核(suprachiasmatic nucleus; SCN)にあり、様々な生理リズムの形成に関わっている。恒温動物において、深部体温は明確な概日リズムを示し、多くの動物では活動期開始時に体温が上昇し、休息時に低下する(図1)。しかし体温の恒常性制御に関わる神経核や神経回路は解明されつつあるが、体温の概日リズムの形成に必要な神経核及び神経回路は未だ特定されていない。

当研究室で、マウスの脳の前腹側脳室周囲核(anteroventral periventricular nucleus; AVPe)に存在するPyroglutamylated RF amide peptide; QRFP産生ニューロン(Qニューロン)を興奮させると冬眠に似た低代謝・低体温状態を誘導できることが明らかとなった(Takahashi et al., *Nature*, 2020)。さらに、破傷風毒素軽鎖により、Qニューロンのシナプスにおける神経伝達を阻害したマウスでは体温リズムが減弱することが確認された。そのため、Qニューロンが体温リズム制御に関わっている可能性が示唆されたが、実際にQニューロンの活動が経時的に変化しているのかは分かっていない。

そこで本研究は、体温リズム形成に関わる神経核の同定、及びその神経回路による体温リズムの制御メカニズムの解明を目指して、Qニューロンに時刻依存的な神経活動の変化があるかを調べた。

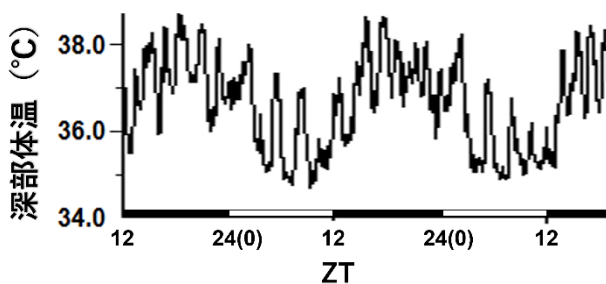


図1 マウスの深部体温の変化の様子

研究手法

Qニューロンの中で神経活動が高い神経細胞の割合が1日のなかでどのように変化しているかを調べた。

まずQニューロンを標識するために、*Qrfp-iCre/Rosa26-DIO-EGFP*マウスを作成した。このマウスではQRFP産生ニューロン特異的にiCreリコンビナーゼが発現しており、iCre依存的に緑色蛍光タンパク質(EGFP)が発現する。神経活動のマーカーとしてc-FOSを用い、c-FOSの発現を免疫組織化学により解析した。

マウスを4時間おき(*ZT0,ZT4,ZT8,ZT12,ZT16,ZT20の時刻

6点)に灌流固定し、脳組織を回収した。脳切片を作成して免疫蛍光染色を行い、共焦点顕微鏡によって観察した。AVPeの領域で確認されたEGFPを発現している細胞数(Qニューロン)と、そのうちc-FOSも同時に発現している細胞数(活動しているQニューロン)を数えることで、各時刻で活動しているニューロンの割合を算出した(図2,n=3 ZT4のみn=2, 平均±SEM)。

*ZT: Zeitgeber Time 明周期の開始時刻をZT0、暗周期の開始時刻をZT12とする12/12時間の明暗周期における体内時計の時刻

結果・考察

Qニューロンの神経活動は明瞭なリズムを示すことが確認された($p=0.023 < 0.05$) (図2)。Qニューロンの神経活動、すなわちc-FOS陽性細胞の割合はZT20において約20%となり最大値を示し、その後徐々に低下してZT16において約10%と最小値を示し、概日リズムを示すことが明らかになった。

Qニューロンを興奮性に操作すると体温低下が生じることが知られており、またマウスの体温は活動期のZT12~ZT24で高く、休息期であるZT0~ZT12で低くなる。本実験では、Qニューロンの活動がZT20において高い値を示しているため、体温の最大値を示したZT16~ZT20からの体温減少に、Qニューロンの活動が関わっている可能性もある。また、Qニューロンの活動が徐々に低下していく様子が観察されたが、体温が上昇する時点でも活動が下がり続けていることから、体温の上昇に拮抗して活動が低下しているかもしれない。

QニューロンはSCNからの神経投射を受けていないことが明らかになっており、活動の概日リズムは背内側核や室傍核を介するなど、間接的な入力によるものである可能性が高い。今後Qニューロンがどのような神経回路によって制御されているのか、また、実際にQニューロンが体温の概日リズムを生成する上でどのような役割を担っているのか調べる必要がある。

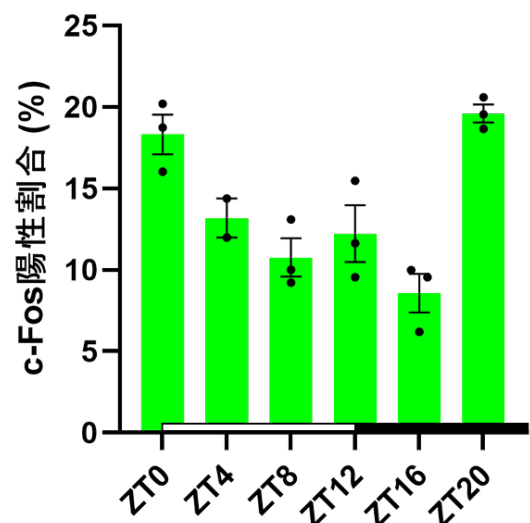


図2 活動しているQニューロンの割合