HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	シリアンハムスターの冬眠を制御する中枢神経機構
Author(s)	渡邊, 正知; Watanabe, Masatomo; 田村, 豊 他
Description	第二章：恒温動物（哺乳類）
Citation	低温科学, 81, 149-158
Issue Date	2023-03-20
DOI	https://doi.org/10.14943/lowtemsci.81.149
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89101
Type	departmental bulletin paper
File Information	16_p149-158_LT81.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

低温科学 81 （2023） 149-158
doi: 10.14943/lowtemsci. 81. 149

シリアンハムスターの冬眠を制御する中枢神経機構

渡邊　正知[1)]，田村　豊[2)]

2022 年 12 月 8 日受付，2023 年 1 月 7 日受理

シリアンハムスター（*Mesocricetus auratus*）は，寒冷・短日環境下で 1ヶ月以上飼育すると環境温度付近（6℃）まで体温を低下させ冬眠を始める（導入期）．その後，数日間の非活動期（維持期）を経て，再び自力で正常体温まで覚醒する（覚醒期）．冬眠期間中はこの数日間の低体温期と中途覚醒を何度も繰り返す．我々はこれまでに，冬眠導入期・維持期・覚醒期の体温は，それぞれ，A_1 受容体を介したアデノシン系・μ_1 受容体を介したオピオイド系・R1 受容体を介した TRH 系の別々の中枢神経機構により制御されていることを明らかにしてきた．本稿ではそれぞれの体温制御機構を解説する．

Central thermoregulatory mechanisms of hibernation in Syrian hamsters

Masatomo Watanabe[1] and Yutaka Tamura[2]

Hibernation induced in Syrian hamsters by housing them in winter condition (L:D 8:16, T_a = 5℃) was confirmed by marked reductions in the body temperature (T_b) and respiratory rate. A hibernation bout of Syrian hamsters could be divided into entrance, maintenance and arousal phases according to changes in T_b. In the entrance phase, the adenosine system mediated by activating A_1 receptors lowered T_b. During the maintenance phase, β-endorphin which synthesizes in the arcuate nucleus related with sustenance of depressed T_b by activating μ-opioid receptors. In the arousal phase, the central thyrotropin-releasing hormone (TRH) system mediated by R1 receptor induced elevation of T_b. TRH-R1 activated non-shivering thermogenesis in brown adipose tissue via sympathetic nerve stimulation. In this paper, we review their thermoregulatory mechanisms in hibernating hamster.

キーワード：冬眠，体温，アデノシン，オピオイド，甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン（TRH）
hibernation, body temperature, adenosine, opioid, thyrotropin releasing hormone

条件的冬眠動物と位置付けられるシリアンハムスター（*Mesocricetus auratus*，以下ハムスターと略）は，寒冷・短日（当研究室では，環境温度 5℃，明期 8 時間，暗期 16 時間）環境下で 1ヶ月以上飼育すると体温を低下させ冬眠を始める（図 1-A）．冬眠導入時，ハムスターの体温は 21.4±0.3 時間かけて外気温＋1℃ 程度まで低下する（冬眠導入期）．その後 36～112 時間低体温を維持し（冬眠維持期），3.3±0.3 時間で正常体温まで一気に復温する（覚醒期）（図 1-B）．冬眠期間中はこの数日間の低体温期と中途覚醒を何度も繰り返す．本稿では，我々がこれまでに明らかにしてきた，中枢神経系を介したハムスターの冬眠時の体温調節機構を紹介する．

1．冬眠導入期の体温制御機構

アデノシンが A_1 受容体を介しラットやマウスあるい

連絡先
渡邊　正知
福山大学薬学部薬理学研究室
〒729-0292　広島県福山市学園町 1 番地三蔵
Tel. 084-936-2112（代）
e-mail：watanabe@fukuyama-u.ac.jp
1）福山大学薬学部薬理学研究室
Laboratory of Pharmacology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Fukuyama University, 1 Sanzo, Gakuen-cho, Fukuyama, Hiroshima 729-0292, Japan
2）福山大学薬学部薬理学研究室
Laboratory of Pharmacology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Fukuyama University, 1 Sanzo, Gakuen-cho, Fukuyama, Hiroshima 729-0292, Japan

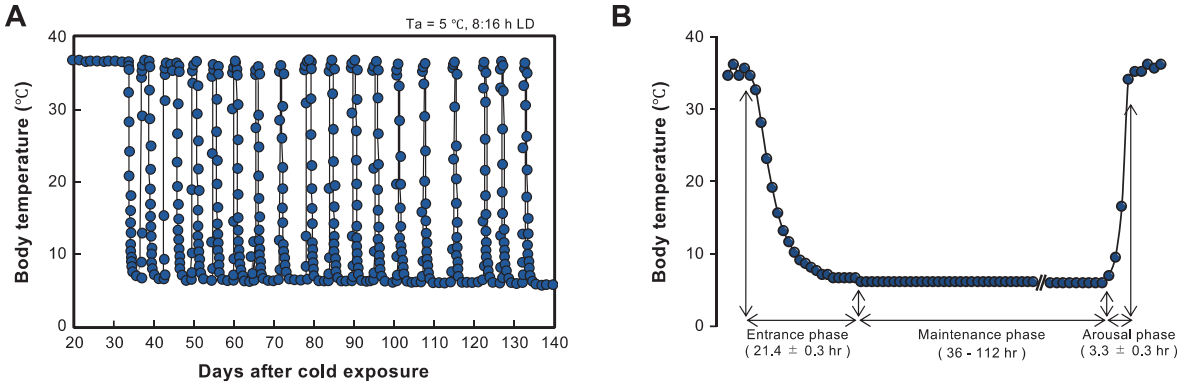

図 1：シリアンハムスターの冬眠時の体温変化
(A) 寒冷（Ta ＝ 5℃）・短日（8:16 h light-dark cycle）環境曝露後のハムスターの代表的な体温変化を示す．(B) 冬眠期におけるハムスターの体温変化を示す．

はウサギの体温を低下させること（Ticho and Radulovacki, 1991; Anderson et al., 1994; Matuszek and Gagalo, 1996）や，A_1 受容体が体温調節中枢の視床下部を含む脳広域に分布していること（Fastbom et al., 1987），さらに，アデノシン A_1 受容体が冬眠期のジリスにおいて増加していること（Lee et al., 1993）から，ハムスターの冬眠時の体温制御においてもアデノシンの関与が示唆された．

そこで，ハムスターの体温に対するアデノシンの影響を明らかにするために，冬眠していない非冬眠ハムスターにアデノシンおよびその供与体となりうるアデニンヌクレオチド（AMP，ADP，ATP）を側脳室から投与し，寒冷 5℃環境下に置いた際の体温への影響を検討した（Tamura et al., 2005）．アデノシン（ADO，400 nmol）は，非冬眠ハムスターの体温を 5.2±0.4℃一過性に低下させた（図 2-A）．また，アデノシンによる体温低下は，A_1 受容体アンタゴニスト（cyclopentyltheophylline：CPT，3 nmol）により抑制され，A_2 受容体アンタゴニスト（3,7-dimetyl-1-propargylxanthine：DMPX，3 nmol）によって抑制されなかった（図 2-B）．これらの結果から，アデノシンによる体温低下は A_1 受容体を介して誘導されることが明らかとなった．一方，各アデニンヌクレオチド（400 nmol）もアデノシン同様に，非冬眠ハムスターの体温を低下させた（図 2-A）．しかし，ATP による体温低下は，P_2 受容体（ATP 受容体）非選択的アンタゴニスト（Suramine，2 nmol）では抑制されず，CPT によって抑制された．これらの結果から，アデニンヌクレオチドはヌクレオチドで作用するのではなく，ecto-enzyme によって代謝され（Fields and Burnstock, 2006; Freissmuth and Klotz, 2017），アデノシンとして P_1 受容体のサブタイプ A_1 を介して体温低下を誘導することが示唆された．

さらにアデノシンによる体温低下機構の詳細を解析した（Shintani et al., 2005a）．異なる環境温度下にてアデノシン A_1 受容体アゴニスト（N^6-cyclohexyladenosine：CHA，0.5 nmol）を非冬眠ハムスターの側脳室に投与すると，環境温度に依存した体温低下が認められた（図 2-C）．また，CHA 誘導体温低下時には，体温が低下した際に通常みられる骨格筋のふるえ熱産生は観察されなかった．次に，視床下部の各部位に 0.3 nmol CHA を微量投与しアデノシンの作用部位を同定した（図 2-D）．前視床下部（anterior hypothalamus：AH）が最も CHA の影響を受ける部位であることが明らかとなった（−7.32±0.92℃）．また，熱産生系の中枢となる背内側部（dorsomedial hypothalamus：DMH）における体温低下作用は，前視床下部よりも有意に少なかった（−0.92±0.32℃）．プレシナプスに存在する A_1 受容体は，$Gi_{/o}$ を介し神経伝達を抑制する（Haas and Selbach, 2000; Dunwiddie and Masino, 2001）．また，視索前野/前視床下部（preoptic/anterior hypothalamus：PO/AH）には熱産生抑制神経系の存在が報告されている（Nakamura, 2011; Szymusiak, 2018）ことなどから，アデノシンは，背内側部を介した熱産生系を直接阻害するよりも，熱産生抑制神経系を脱抑制することで非冬眠ハムスターの体温低下を誘導することが示唆された．

次に，冬眠時の体温低下におけるアデノシンの関与を明らかにするために，冬眠ハムスターに P_1 受容体アンタゴニストを投与しその影響を検討した（Tamura et al., 2005）．冬眠導入期（冬眠開始 17 時間後）に選択的 A_1 受容体アンタゴニストの CPT（3 nmol）を側脳室から投与すると体温が上昇し冬眠は中断されたが，A_2 受容体アンタゴニスト DMPX（3 nmol）では体温変化は認められず冬眠が継続した（図 2-E）．興味深いことに，CPT 投与により覚醒が誘導された個体の割合は，冬眠開始 17 時間を超えると徐々に減少し，冬眠維持期にあたる冬眠

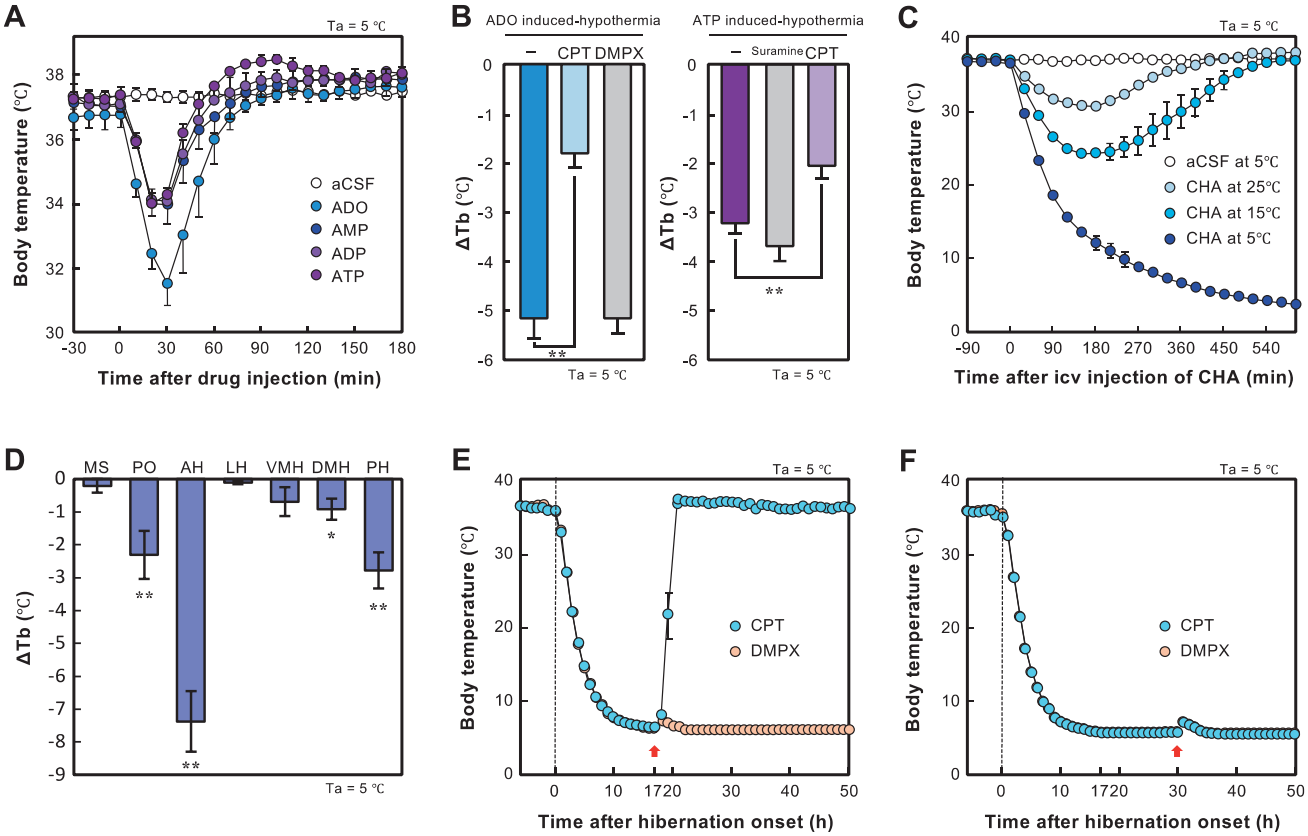

図 2：冬眠導入期の体温制御におけるアデノシンの作用（Tamura ら（2005），Shintani ら（2005a）より引用/一部改変）
(A) 非冬眠ハムスターの体温に対するアデノシンの影響．外気温（Ta）5℃の寒冷環境に 3 時間順化させたのち，人工脳脊髄液（artificial cerebrospinal fluid：aCSF ○），アデノシン（ADO ●）および各アデニンヌクレオチド（ADP ●，AMP ●，ATP ●）400 nmol を側脳室から投与し深部体温を測定した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(B) アデノシン/ATP 誘導低体温に対するアデノシン受容体アンタゴニストの影響．**非冬眠ハムスターに ADO（400 nmol）もしくは ATP（400 nmol）を側脳室から投与し低体温を誘導した．cyclopentyltheophylline（CPT，3 nmol），3,7-dimetyl-1-propargylxanthin（DMPX，3 nmol），Suramine（2 nmol）はいずれも低体温誘導前に側脳室から投与した．各データは深部体温の変化（Δ Tb）を平均±SEM で示した（n＝6）．$^{**}P<0.01$ **(C) A_1 受容体アゴニスト誘導低体温に対する環境温度の影響．**各環境温度（Ta＝5℃ ●，15℃ ●，25℃ ●）に順化させたのち，非冬眠ハムスターに N^6-cyclohexyladenosine（CHA，0.5 nmol）を側脳室から投与し深部体温を測定した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(D) A_1 受容体アゴニストの脳内作用部位．**非冬眠ハムスターの視床下部の各部位（medial septum：MS，preoptic area：PO，anterior hypothalamus：AH，lateral hypothalamus：LH，ventromedial hypothalamus：VMH，dorsomedial hypothalamus：DMH，posterior hypothalamus：PH）に CHA（0.3 nmol）を微量投与し深部体温を測定した．各データは体温変化（Δ Tb）を平均±SEM で示した（n＝6）．$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$ **(E) 冬眠導入期の低体温に対するアデノシン受容体アンタゴニストの影響．**冬眠開始 17 時間後に，CPT（●，3 nmol）もしくは DMPX（●，3 nmol）を側脳室から投与し，深部体温に対する影響を検討した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(F) 冬眠維持期の低体温に対するアデノシン受容体アンタゴニストの影響．**冬眠開始 30 時間後に，CPT（●，3 nmol）もしくは DMPX（●，3 nmol）を側脳室から投与し，深部体温に対する影響を検討した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．

開始 30 時間後では CPT による覚醒は認められなかった（図 2-F）．これらの結果から，冬眠導入期の低体温は，A_1 受容体を介したアデノシン系によって誘導されることが明らかとなった．アデノシン系による体温制御は，ジリスの季節性冬眠（Jinka et al., 2011）でも報告されており，低体温誘導の中心的な役割を担っていることが推測される．また，A_1 受容体を介したアデノシン刺激は，覚醒を制御する外側視床下部（lateral hypothalamus：LH）のオレキシン神経系を抑制することが報告されている（Liu and Gao, 2007; Thakkar et al., 2008）．このことは，冬眠導入にはアデノシンが体温を低下させるとともに，覚醒系を抑制することにより冬眠が開始することを示唆する．

2. 冬眠維持期の体温制御機構

前項（図 2-F）に示すように，ハムスターの冬眠維持期はアデノシンとは異なる別の体温制御系によって調節されていることが示唆された．オピオイドが体温を低下させること（Handler et al., 1994; Baker and Meert., 2002）や，オピオイド受容体アゴニストを非冬眠期のジリスに慢性投与すると冬眠が誘導されること（Oeltgen et al.,

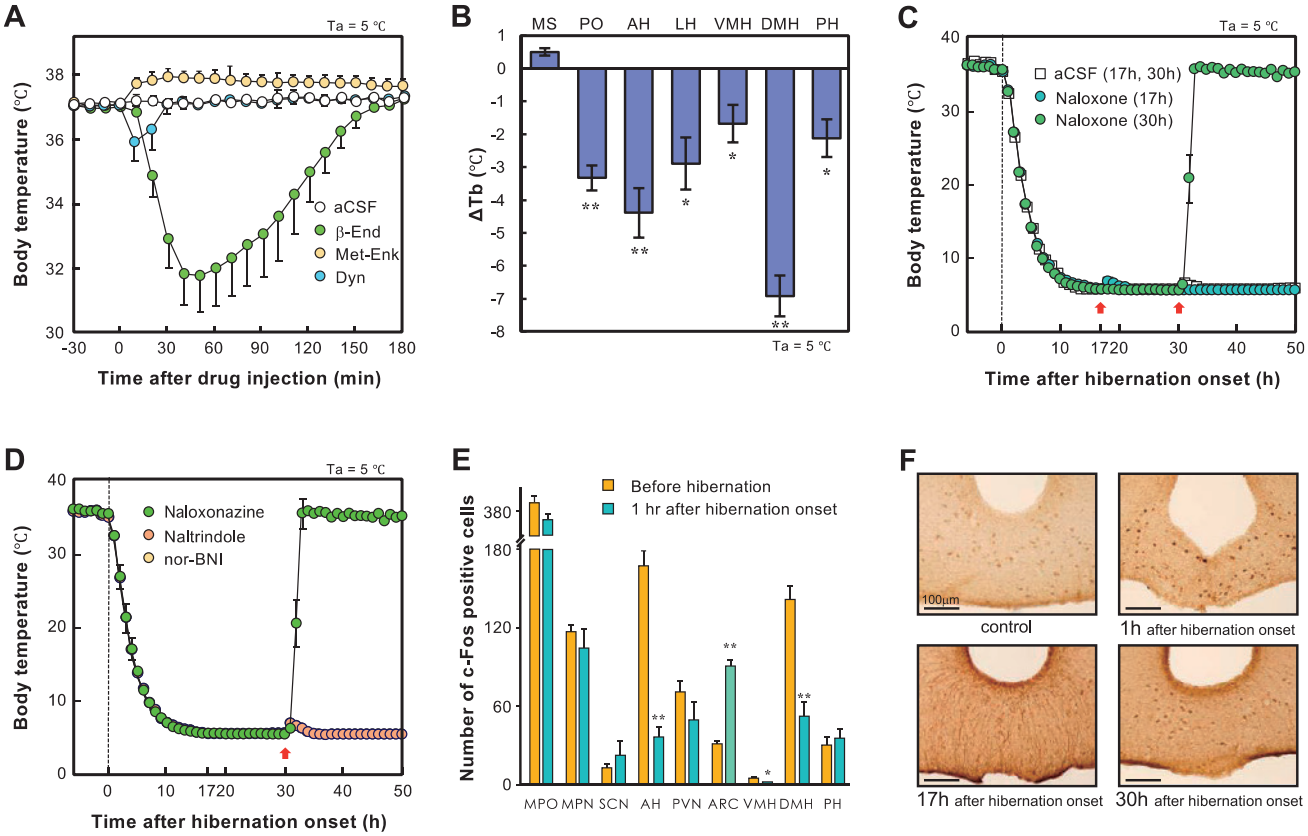

図 3：冬眠維持期の体温制御におけるオピオイドの作用（Tamura ら（2005，2012）より引用/一部改変）
(A) 非冬眠ハムスターの体温に対するオピオイドの影響．外気温（Ta）5℃の寒冷環境に 3 時間順化させたのち，aCSF（○），β-endorphin（β-End ●，0.1 nmol），Met-enkephalin（Met-Enk ●，10 nmol）および Dynorphin A（Dyn ●，10 nmol）を側脳室からそれぞれ投与し深部体温を測定した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(B) μ 受容体アゴニストの脳内作用部位．**非冬眠ハムスターの視床下部の各部位（medial septum：MS，preoptic area：PO，anterior hypothalamus：AH，lateral hypothalamus：LH，ventromedial hypothalamus：VMH，dorsomedial hypothalamus：DMH，posterior hypothalamus：PH）に［D-Ala^2, N-MePhe^4, Gly-ol］-enkephalin（DAMGO，0.3 nmol）を微量投与し深部体温を測定した．各データは体温変化（ΔTb）を平均±SEM で示した（n＝6）．$^*P<0.05$，$^{**}P<0.01$ **(C) 冬眠時の低体温に対するオピオイド受容体アンタゴニストの影響．**冬眠開始 17 時間後（●）もしくは 30 時間後（●）に，naloxone（10 nmol）を側脳室から投与し，深部体温に対する影響を検討した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(D) 冬眠維持期の低体温に対する選択的オピオイド受容体アンタゴニストの影響．**冬眠開始 30 時間後に，Naloxonazine（●，10 nmol），Naltrindole（●，10 nmol）もしくは nor-Binaltorphimine（nor-BNI ●，10 nmol）を側脳室から投与し，深部体温に対する影響を検討した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(E) 視床下部における冬眠開始後の神経活動の変化．**前冬眠期（before hibernation）および冬眠開始 1 時間後の視床下部各部位（medial preoptic area：MPO，medial preoptic nucleus：MPN，suprachiasmatic nucleus：SCN，anterior hypothalamus：AH，paraventricular nucleus：PVN，arcuate nucleus：ARC，ventromedial hypothalamus：VMH，dorsomedial hypothalamus：DMH，posterior hypothalamus：PH）における抗 c-Fos 抗体陽性細胞数を定量した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．$^*P<0.05$，$^{**}P<0.01$ **(F) 冬眠時の弓状核における β-endorphin の変化．**常温で飼育したハムスター（control），および冬眠開始 1 時間後，17 時間後，30 時間後それぞれのハムスターの脳組織切片を作成し，抗 β-endorphin 抗体を用いて免疫組織染色を行った．

1988），さらに脳室内への非選択的オピオイド受容体アンタゴニストの持続投与によりジリスの冬眠維持期間が短縮すること（Beckman and Llados-Eckman, 1985）などから，冬眠ハムスターの低体温維持におけるオピオイドの関与が推測された．

そこで，ハムスターの体温に対するオピオイドの影響を明らかにするために，非冬眠ハムスターにオピオイド受容体アゴニストを側脳室から投与し体温への影響を検討した（Tamura et al., 2005, 2012）．β-endorphin（0.1 nmol，μ 受容体アゴニスト）は一過性の体温低下を誘導したが，Met-enkephalin（10 nmol，δ 受容体アゴニスト）および Dynorphin A（10 nmol，κ 受容体アゴニスト）は体温低下を誘導しなかった（図 3-A）．さらに，視床下部の各部位に μ 受容体アゴニスト（［D-Ala^2, N-MePhe^4, Gly-ol］-enkephalin：DAMGO）を微量投与したところ，前視床下部（AH）や背内側部（DMH）など視床下部の広域で μ 受容体を介した体温低下が認められた（図 3-B）．この結果から，ハムスターでは視床下部広域に存在する μ 受容体を活性化することで低体温が誘導されることが明らかとなった．

次に，冬眠維持期の低体温におけるオピオイドの関与を明らかにするために，冬眠ハムスターにオピオイド受

容体アンタゴニストを投与しその影響を検討した（Tamura et al., 2005）．冬眠導入期（冬眠開始 17 時間後）に非選択的オピオイド受容体アンタゴニストの naloxone（10 nmol）を側脳室から投与したところ，ハムスターの体温変化は認められなかった．一方，冬眠維持期（冬眠開始 30 時間後）のハムスターに naloxone を投与すると体温が上昇し覚醒が誘導された（図 3-C）．興味深いことに，冬眠開始 27 時間後までは naloxone による体温上昇は認められないが，28 時間を越えると覚醒が誘導される個体が出現するようになり，30 時間後ではすべての冬眠個体において覚醒が誘導された．冬眠ハムスターの体温に対する CPT の作用と naloxone の作用は非常によく相反していることから，冬眠導入期はアデノシン系によって低体温が誘導され，冬眠開始 30 時間前後で体温制御機構がアデノシン系からオピオイド系に切替わり，オピオイド系によって低体温が維持されていることが示唆された．またこれらの結果は，体温 6℃という低温下で一定の神経活動が持続的に機能していることを示唆する．さらに，選択的オピオイド受容体アンタゴニストを用い，そのサブタイプを同定した．選択的 μ_1 受容体アンタゴニストの naloxonazine（10 nmol）は体温上昇を誘導し冬眠を中断させたが，選択的 δ 受容体アンタゴニストの naltrindole や選択的 κ 受容体アンタゴニストの nor-Binaltorphimine（nor-NBI）は冬眠中の体温に影響しなかった（図 3-D）．以上より，冬眠維持期の低体温は，μ_1 受容体を介したオピオイド系によって維持されていることが明らかとなった．

さらに冬眠維持期におけるオピオイド系による低体温制御機構の詳細を解析した（Tamura et al., 2012）．転写因子 c-Fos は，神経活動により速やかに誘導される最初期遺伝子（immediate-early genes）の一つとして，神経活動の指標として汎用されている．そこで，冬眠開始に伴う視床下部における神経活動の変化を，抗 c-Fos 抗体を用い免疫組織学的に解析した．冬眠開始 1 時間後には，前視床下部（AH）・腹内側部（ventromedial hypothalamus：VMH）・背内側部（DMH）での神経活動は有意に減弱していたが，弓状核（arcuate nucleus：ARC）でのみ神経活動の有意な亢進が認められた（図 3-E）．弓状核には β-endorphin 陽性細胞が局在する（Lantos et al., 1995）．そこで，冬眠開始後の弓状核における内因性オピオイド β-endorphin の発現変化を免疫組織学的に解析したところ，冬眠開始 1 時後には細胞体における β-endorphin 陽性シグナルの増強が認められた．さらに冬眠開始 17 時間後には軸索から神経終末へ β-endorphin 陽性シグナルが移行すること，また，冬眠開始 30 時間後でも冬眠開始前と同レベルの β-endorphin 陽性シグナルが観察された（図 3-F）．β-endorphin は，プロセッシング酵素の prohormone convertase 2（PC2, Zhou et al., 1993）や PC2 の活性を制御する secretogranin V（7B2, Braks and Martens, 1994）などの作用によってプロピオメラノコルチンから合成される．PC2 および 7B2 の発現は，冬眠開始 17 時間，30 時間後いずれにおいても前冬眠期に比べ有意に増加しており，冬眠開始後に β-endorphin が合成されていることが示唆された．一方，視索前野や前視床下部における内因性オピオイドの endomorphin の発現変化を免疫組織染色にて解析したところ，c-Fos 同様，冬眠開始直後に顕著に減少していた．これらの結果から，冬眠開始後に弓状核で合成された β-endorphin が，熱産生系の抑制および/もしくは熱産生抑制系の脱抑制を介し，冬眠維持期の低体温を制御していることが示唆された．

μ 受容体アゴニストは，低温誘導神経細胞死や 6-hydroxydopamine 誘導神経細胞死に対して保護作用を有する（Tamura et al., 2006; Eftekhar-Vaghefi et al., 2015）．また，δ 受容体アゴニストには，様々な臓器における虚血再灌流障害に対する保護作用が多く報告されている（Yamanouchi et al., 2003; Borlongan et al., 2009; Wang et al., 2015; Wang et al., 2016; Seewald et al., 2016）．β-endorphin には μ 受容体だけでなく δ 受容体との親和性も報告されている（Raynor et al., 1994）．これらを考慮すると，冬眠開始後に合成される内因性 β-endorphin は，μ 受容体を介して低体温を制御するだけでなく，μ 受容体や δ 受容体を介して低体温による神経障害や覚醒時の再灌流障害に対して保護的な役割を担っていることが示唆される．

3. 覚醒期の体温制御機構

甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン（thyrotropin releasing hormone：TRH）は，甲状腺ホルモン（T_3, T_4）の作用を介して熱産生を亢進させるだけでなく，それ自身が中枢性の内因性生理活性物質として熱産生を制御することが示唆されていた（Hori et al., 1988）．また，ジリスの視床下部における TRH 受容体数が，非冬眠期と冬眠期さらには低体温時で異なることが報告されており（Stanton et al., 1992），冬眠時の体温制御においても TRH の関与が推測された．

そこで，冬眠ハムスターの体温制御における TRH の関与を明らかにするために，TRH および抗 TRH 抗体を用いその影響を検討した（Tamura et al., 2005）．TRH

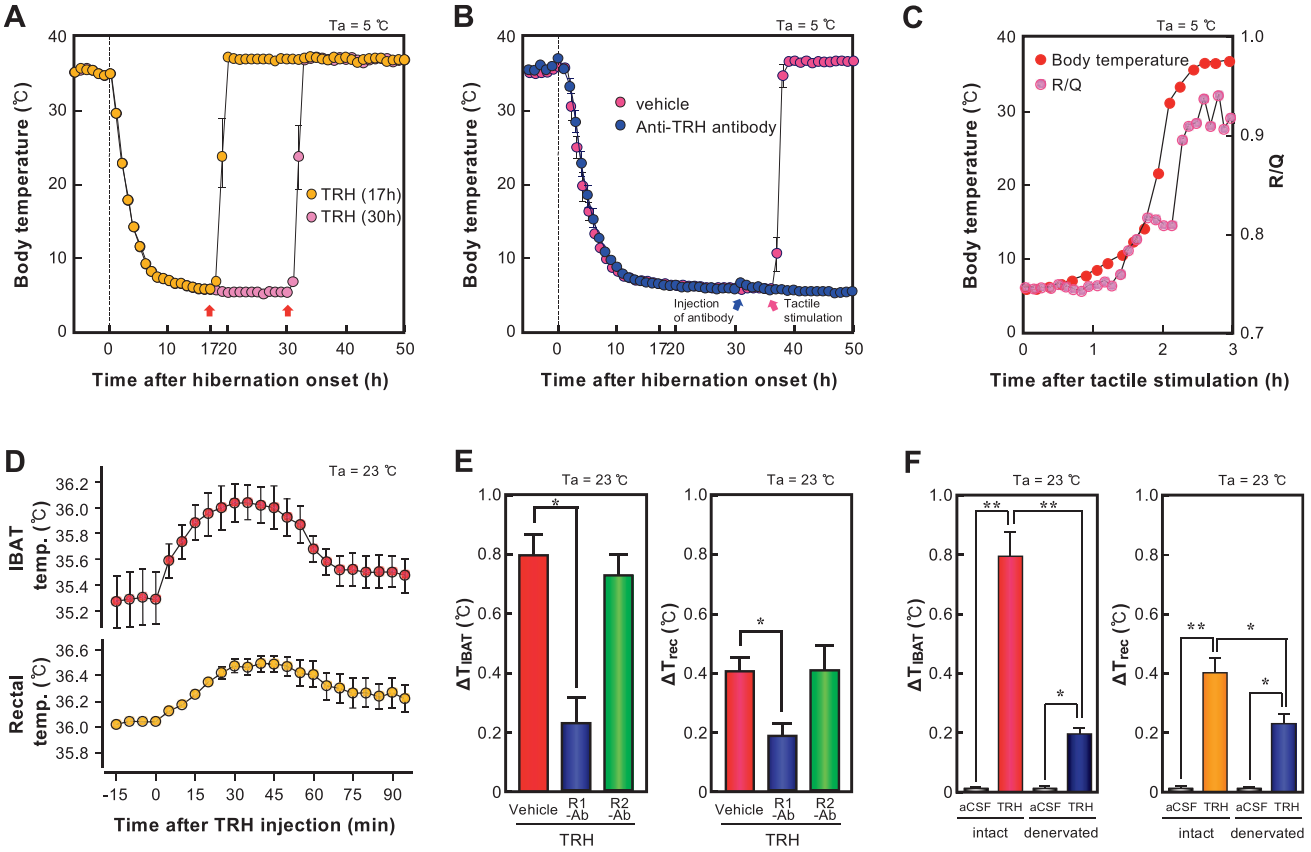

図 4：覚醒時の体温制御における TRH の作用（Tamura ら（2005），Shintani ら（2005b）より引用/一部改変）
(A) 冬眠時の体温に対する TRH の影響．冬眠開始 17 時間後（●）もしくは 30 時間後（●）に，TRH（55.2 pmol）を側脳室から投与し，深部体温に対する影響を検討した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(B) 触刺激誘導覚醒に対する抗 TRH 抗体の影響．**冬眠開始 30 時間後に，PBS（vehicle ●）もしくは抗 TRH 抗体（●）を側脳室から投与し，投与 5 時間後に触刺激にて覚醒を誘導した．各深部体温データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(C) 触刺激誘導覚醒時における体温と呼吸商（respiratory quotient：R/Q）の関係．**冬眠ハムスターに触刺激を加えた後，体温（●）および酸素消費量，二酸化炭素排出量を連続測定した．R/Q（●）は，二酸化炭素排出量/酸素消費量から算出した．**(D) 非冬眠ハムスターの体温に対する TRH の影響．**イソフルラン麻酔下にて TRH（552 pmol）を側脳室から投与し，肩甲骨間褐色脂肪組織温（IBAT temp. ●）および直腸温（rectal temp. ●）を測定した．各データは平均±SEM で示した（n＝6）．**(E) TRH 誘導体温上昇に対する抗 TRH 受容体抗体の影響．**イソフルラン麻酔下にて TRH（552 pmol）を側脳室から投与し，体温上昇を誘導した．抗 TRH 受容体タイプ 1 抗体（R1-Ab）および抗 TRH 受容体タイプ 2 抗体（R2-Ab）は TRH 投与前に側脳室より投与した．IBAT 温および直腸温の変化（ΔT_{IBAT}，ΔT_{rec}）は平均±SEM で示した（n＝6）．$^{*}P<0.05$ **(F) TRH 誘導体温上昇に対する交感神経切除の影響．**IBAT に投射する交感神経を切除したのち，TRH（552 pmol）を側脳室から投与した．IBAT 温および直腸温の変化（ΔT_{IBAT}，ΔT_{rec}）は平均±SEM で示した（n＝6）．$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$

（55.2 pmol）を冬眠開始 17 時間後および 30 時間後にそれぞれ側脳室から投与したところ，いずれも体温が上昇し覚醒が誘導された（図 4-A）．また，触刺激による覚醒誘導は，抗 TRH 抗体の前投与によって阻害された（図 4-B）．さらに触刺激誘導覚醒時における体温上昇と呼吸商の関係を解析したところ，復温初期の体温が 10℃に達するまでは脂質代謝が中心に行われることが明らかとなった（図 4-C）．覚醒初期はふるえも認められないことから，覚醒期の体温上昇は TRH 刺激による褐色脂肪組織（brown adipose tissue：BAT）の非ふるえ熱産生を介して誘導されていることが示唆された．

そこで TRH による熱産生制御機構の詳細を非冬眠ハムスターを用いて検討した（Shintani et al., 2005b）．TRH を麻酔下にて側脳室から投与したところ，BAT 温，直腸温ともに一過性の温度上昇が認められた（図 4-D）．次に，体温上昇を惹起する TRH 受容体サブタイプを同定した．抗 TRH-R1 抗体は，TRH による BAT 温および直腸温の上昇を有意に抑制したが，抗 TRH-R2 抗体は影響しなかった（図 4-E）．また，視床下部の各部位に TRH を微量投与したところ，視索前野，前視床下部，腹内側部，背内側部で BAT 温および直腸温の有意な上昇が認められた．さらに，BAT に投射する交感神経を切除しその影響を検討したところ，TRH による BAT 温および直腸温の上昇はいずれも有意に抑制された（図 4-F）．その後，冬眠維持期のハムスターにアドレナリン β_3 受容体アンタゴニストを大腿静脈より投与すると，

BAT による非ふるえ熱産生が抑制され触刺激誘導体温上昇が抑制されることが報告された（Kitao and Hashimoto, 2012）．一方，側脳室内に投与した TRH が内分泌系を賦活化させるかを確認したところ，血清中の甲状腺ホルモン（T_3, T_4）の有意な変化は認められなかった．これらを考慮すると，TRH は視床下部の R1 受容体刺激を介して交感神経を賦活化し，β_3 受容体を介して BAT における非ふるえ熱産生を亢進することで，覚醒初期の体温上昇を惹起していることが示唆された．少なくともジリスの冬眠期における中途覚醒初期の体温上昇は，BAT の非ふるえ熱産生によって惹起されることが報告されている（Ballinger and Andrews, 2018）．

4. 冬眠ハムスターの体温を制御するその他の機構

オレキシンは覚醒や摂食行動の制御（Sakurai et al., 1998; Sakurai 2007）だけでなく，BAT の非ふるえ熱産生の制御にも関与している（Sellayah et al., 2011; Tupone et al., 2011; Madden et al., 2012）．また TRH がオレキシン神経系の活動を制御する（Gonzále et al., 2009; Hara et al., 2009）ことから，冬眠ハムスターの覚醒期の TRH-R1 受容体を介した体温上昇におけるオレキシンの関与が示唆された．そこで，TRH 誘導体温上昇における内因性オレキシンの関与を明らかにするために，オレキシン受容体アンタゴニストを用いその影響を検討した（データ未掲載）．オレキシン受容体には，OX_1 および OX_2 の 2 つのサブタイプが存在する．そこで，OX_1 受容体アンタゴニスト（SB-334867，100 pmol）および OX_2 受容体アンタゴニスト（TCS OX_2 29，100 pmol）を非冬眠ハムスターに前投与し，TRH（552 pmol）を側脳室から投与したところ，TRH による一過性の体温上昇はいずれも認められなかった．これらの結果から，非冬眠ハムスターの TRH 誘導体温上昇には内因性のオレキシンがその下流で関与していることが示唆された．次に，冬眠ハムスターの覚醒時の体温上昇における内因性オレキシンの関与を明らかにするために，OX_1 受容体および OX_2 受容体の両者のリガンドとなるオレキシン A の抗血清を用いその影響を検討した．冬眠維持期に抗オレキシン抗体を側脳室から投与し，投与 5 時間後に TRH にて覚醒を誘導したところ，体温は上昇せず覚醒も認められなかった（データ未掲載）．非冬眠動物における低体温誘導時のオレキシン神経系を介した体温制御（Tupone et al., 2011; Futatsuki et al., 2018）に加え，最近，ハムスターの冬眠時のオレキシン神経系の機能変化が報告されている（López et al., 2022）．我々の結果と兼ね合わせると，冬眠の覚醒期の体温制御には，TRH-オレキシン系がその中心的な役割を担っていることが示唆される．

ボンベシン様ペプチドとして知られているガストリン放出ペプチド（gastrin-releasing peptide：GRP）やニューロメジン B（neuromedin B：NMB）は，脳室内投与により非冬眠動物のラットの低体温を誘導することが報告されている（Tsushima et al., 2003）．また，GRP 受容体欠損マウスや NMB 受容体欠損マウスでは，ボンベシン様ペプチド誘導低体温が抑制されることも報告されている（Wada et al., 1997; Ohki-Hamazaki et al., 1999）．そこで，冬眠ハムスターの体温制御におけるボンベシン様ペプチドの関与を明らかにするために，GRP を非冬眠ハムスターの側脳室に投与し体温への影響を検討した（データ未掲載）．GRP（10–1000 pmol，icv）はハムスターの体温に影響しなかった．ところが，GRP は CHA（A_1 受容体アゴニスト）誘導低体温を抑制し，その抑制効果はボンベシン受容体アンタゴニスト（PD176252，100 pmol）の前投与にて有意に減弱した．一方，GRP は DAMGO（μ 受容体アゴニスト）誘導低体温には影響しなかった．これらの結果から，GRP はアデノシン系を介した冬眠導入期の体温低下を抑制的に制御していることが示唆された．また，冬眠ハムスターの視床下部における *Grp* 発現量は，前冬眠期に比べると有意に低下していた．冬眠期のジリスの視床下部内ではボンベシン様ペプチドが減少する（Muchlinski et al., 1983）ことも報告されており，低体温期におけるボンベシン様ペプチドの減少が冬眠開始の引き金になっていることが示唆された．GRP は光刺激に依存して分泌され体内時計を制御することが知られているが，ラットやマウスとハムスターではその分泌反応性が異なることが報告されており（Shinohara et al., 1993; Karatsoreos et al., 2006; Francl et al., 2010），GRP の機能的な種差が推測される．

本稿で紹介したように，これまでにハムスターの冬眠導入期，維持期，そして覚醒期の体温制御の一端が明らかとなった．しかし，他の体温制御物質（Popova et al., 1993; Sallmen et al., 2003a, 2003b; Voronova, 2021）の関与，あるいは，それぞれの体温制御の調節機構や冬眠発動機構など，未だ不明な点も多くそれらの解明には今後のさらなる検討が必要である．

参考文献

Anderson, R., Sheehan, M. J., Strong, P. (1994).

Characterization of the adenosine receptors mediating hypothermia in the conscious mouse. Br J Pharmacol. **113** (4), 1386–90. doi: 10.1111/j.1476–5381.1994.tb17151.x.

Baker, A. K., Meert, T. F. (2002). Functional effects of systemically administered agonists and antagonists of mu, delta, and kappa opioid receptor subtypes on body temperature in mice. J Pharmacol Exp Ther, **302**(3), 1253–1264. doi: 10.1124/jpet.102.037655.

Ballinger M.A., Andrews M.T. (2018) Nature's fat-burning machine: brown adipose tissue in a hibernating mammal. J Exp Biol, **221** (Pt Suppl 1), jeb162586. doi: 10.1242/jeb.162586.

Beckman, A.L., Llados-Eckman, C. (1985). Antagonism of brain opioid peptide action reduces hibernation bout duration. Brain Res, **328** (2), 201–205. doi: 10.1016/0006–8993(85)91030–3.

Borlongan C.V., Hayashi T., Oeltgen P.R., Su T.P., Wang Y. (2009) Hibernation-like state induced by an opioid peptide protects against experimental stroke. BMC Biol, **7**, 31. doi: 10.1186/1741–7007–7–31

Braks J.A., Martens G.J. (1994) 7B2 is a neuroendocrine chaperone that transiently interacts with prohormone convertase PC2 in the secretory pathway. Cell, **78**(2), 263–273. doi: 10.1016/0092–8674(94)90296–8.

Dunwiddie T.V., Masino S.A. (2001) The role and regulation of adenosine in the central nervous system. Annu Rev Neurosci, **24**, 31–55. doi: 10.1146/annurev.neuro.24.1.31.

Eftekhar-Vaghefi S., Esmaeili-Mahani S., Elyasi L., Abbasnejad M. (2015) Involvement of Mu opioid receptor signaling in the protective effect of opioid against 6-hydroxydopamine-induced SH-SY5Y human neuroblastoma cells apoptosis. Basic Clin Neurosci, **6**(3), 171–178.

Fastbom, J., Pazos, A., Palacios, J.M. (1987). The distribution of adenosine A1 receptors and 5'-nucleotidase in the brain of some commonly used experimental animals. Neuroscience, **22**(3), 813–826. doi: 10.1016/0306–4522(87)92961–7.

Fields R.D., Burnstock G. (2006) Purinergic signalling in neuron-glia interactions. Nat Rev Neurosci, **7** (6), 423–36. doi: 10.1038/nrn1928.

Francl J.M., Kaur G., Glass J.D. (2010) Roles of light and serotonin in the regulation of gastrin-releasing peptide and arginine vasopressin output in the hamster SCN circadian clock. Eur J Neurosci, **32**(7), 1170–1179. doi: 10.1111/j.1460–9568.2010.07374.x.

Freissmuth, M., Klotz, K.N. (2017) Chapter 1 - Adenosine Receptor Biology in the Central Nervous System. Adenosine Receptors in Neurodegenerative Diseases, Edited by Blum D., Lopes L.V., 3–22. Academic Press. doi: 10.1016/B978–0–12–803724–9.00001–6.

Futatsuki T., Yamashita A., Ikbar K.N., Yamanaka A., Arita K., Kakihana Y., Kuwaki T. (2018) Involvement of orexin neurons in fasting- and central adenosine-induced hypothermia. Sci Rep **8**(1), 2717. doi: 10.1038/s41598–018–21252–w.

González J.A., Horjales-Araujo E., Fugger L., Broberger C., Burdakov D. (2009) Stimulation of orexin/hypocretin neurones by thyrotropin-releasing hormone. J Physiol, **587** (Pt 6), 1179–1186. doi: 10.1113/jphysiol.2008.167940.

Hori T., Yamasaki M., Asami T., Koga H., Kiyohara T. (1988) Responses of anterior hypothalamic-preoptic thermosensitive neurons to thyrotropin releasing hormone and cyclo (His-Pro). Neuropharmacology, **27** (9), 895–890. doi: 10.1016/0028–3908(88)90116–5.

Jinka T.R., Tøien Ø., Drew K.L. (2011) Season primes the brain in an arctic hibernator to facilitate entrance into torpor mediated by adenosine A_1 receptors. J Neurosci, **31** (30), 10752–10758. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1240–11.2011.

Karatsoreos I.N., Romeo R.D., McEwen B.S., Silver R. (2006) Diurnal regulation of the gastrin-releasing peptide receptor in the mouse circadian clock. Eur J Neurosci, **23**(4), 1047–1053. doi: 10.1111/j.1460–9568.2006.04633.x.

Lantos T.A., Gorcs T.J., Palkovits M. (1995) Immunohistochemical mapping of neuropeptides in the premamillary region of the hypothalamus in rats. Brain Res Brain Res Rev, **20**(2), 209–249. doi: 10.1016/0165–0173(94)00013-f.

Lee T.F., Nurnberger F., Wang L.C.H. (1993) Possible involvement of endogenous adenosine in hibernation. Life in the Cold: Ecological, Physiological, and Molecular Mechanisms, Edited by Carey C., Florant G.L., Wunder B.A. Horwitz B., pp 315–322, Westview Press.

Liu, Z.W., Gao, X.B. (2007) Adenosine inhibits activity of hypocretin/orexin neurons by the A1 receptor in the lateral hypothalamus: a possible sleep-promoting effect. J Neurophysiol, **97**(1), 837–48. doi: 10.1152/jn.00873.2006.

López J.M., Carballeira P., Pozo J., León-Espinosa G., Muñoz A. (2022) Hypothalamic orexinergic neuron changes during the hibernation of the Syrian hamster. Front Neuroanat, **16**, 993421. doi: 10.3389/fnana.2022.993421.

Matuszek, M., Gagalo, I.T. (1996) The effect of N^6-cyclohexyladenosine and 5'-*N*-ethylcarboxamidoadenosine on body temperature in normothermic rabbits. Gen Pharmacol. **27** (3), 467–469. doi: 10.1016/0306–3623 (95)00098–4.

Muchlinski A.E., Ho F.J., Chew P., Yamada T. (1983) The concentrations of four neuropeptides in various brain areas of summer active and hibernating Spermophilus lateralis, Comp Biochem Physiol C Comp Pharmacol Toxicol, **74**(1), 185–189. doi: 10.1016/0742–8413(83)90172-x.

Nakamura, K. (2011) Central circuitries for body temperature regulation and fever. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, **301** (5), R1207–1228. doi: 10.1152/ajpregu.00109.2011.

Oeltgen P.R., Nilekani S.P., Nuchols P.A., Spurrier W.A., Su T.P. (1988) Further studies on opioids and hibernation: delta opioid receptor ligand selectively induced hibernation in

summer-active ground squirrels. Life Sci, **43**(19), 1565–1574. doi: 10.1016/0024-3205(88)90406-7.

Ohki-Hamazaki H., Sakai Y., Kamata K., Ogura H., Okuyama S., Watase K., Yamada K., Wada K. (1999) Functional properties of two bombesin-like peptide receptors revealed by the analysis of mice lacking neuromedin B receptor. J Neurosci, **19**(3), 948–954. doi: 10.1523/JNEUROSCI.19-03-00948.1999.

Popova N.K., Voronova I.P., Kulikov A.V. (1993) Involvement of brain tryptophan hydroxylase in the mechanism of hibernation. Pharmacol Biochem Behav, **46**(1), 9–13. doi: 10.1016/0091-3057(93)90309-h.

Raynor K., Kong H., Chen Y., Yasuda K., Yu L., Bell G.I., Reisine T. (1994) Pharmacological characterization of the cloned kappa-, delta-, and mu-opioid receptors. Mol Pharmacol, **45**(2), 330–334.

Sallmen T., Lozada A.F., Anichtchik O.V., Beckman A.L., Panula P. (2003a) Increased brain histamine H_3 receptor expression during hibernation in golden-mantled ground squirrels. BMC Neurosci. **4**, 24. doi: 10.1186/1471-2202-4-24.

Sallmen T., Lozada A.F., Beckman A.L., Panula P. (2003b) Intrahippocampal histamine delays arousal from hibernation. Brain Res. **966**(2), 317–320. doi: 10.1016/s0006-8993(02)04235-x.

Seewald M., Coles Jr. J.A., Sigg D.C., Iaizzo P.A. (2017) Featured article: pharmacological postconditioning with delta opioid attenuates myocardial reperfusion injury in isolated porcine hearts. Exp Biol Med (Maywood), **242**(9), 986–995. doi: 10.1177/1535370216684041

Shinohara K., Tominaga K., Isobe Y., Inouye S.T. (1993) Photic regulation of peptides located in the ventrolateral subdivision of the suprachiasmatic nucleus of the rat: daily variations of vasoactive intestinal polypeptide, gastrin-releasing peptide, and neuropeptide Y. J Neurosci, **13**(2), 793–800. doi: 10.1523/JNEUROSCI.13-02-00793.1993.

Haas, H.L., Selbach, O. (2000) Functions of neuronal adenosine receptors. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, **362**(4–5), 375–381. doi: 10.1007/s002100000314.

Hara J., Gerashchenko D., Wisor J.P., Sakurai T., Xie X., Kilduff T.S. (2009) Thyrotropin-releasing hormone increases behavioral arousal through modulation of hypocretin/orexin neurons. J Neurosci, **29**(12), 3705–3714. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0431-09.2009.

Handler C.M., Piliero T.C., Geller E.B., Adler M.W. (1994) Effect of ambient temperature on the ability of mu-, kappa- and delta-selective opioid agonists to modulate thermoregulatory mechanisms in the rat. J Pharmacol Exp Ther, **268**(2), 847–855.

Kitao N., Hashimoto M. (2011) Increased thermogenic capacity of brown adipose tissue under low temperature and its contribution to arousal from hibernation in Syrian hamsters. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, **302**(1), R118–125. doi: 10.1152/ajpregu.00053.2011.

Madden C.J., Tupone D., Morrison S.F. (2012) Orexin modulates brown adipose tissue thermogenesis. Biomol Concepts, **3**(4), 381–386. doi: 10.1515/bmc-2011-0066.

Sakurai T., Amemiya A., Ishii M., Matsuzaki I., Chemelli R.M., Tanaka H., Williams S.C., Richardson J.A., Kozlowski G.P., Wilson S, Arch J.R., Buckingham R.E, Haynes A.C., Carr S.A., Annan R.S., McNulty D.E., Liu W.S, Terrett J.A., Elshourbagy N.A., Bergsma D.J., Yanagisawa M. (1998). Orexins and orexin receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. Cell **92**(4), 573–585. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80949-6.

Sakurai T. (2007) The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. Nat Rev Neurosci, **8**(3), 171–81. doi: 10.1038/nrn2092.

Sallmen T., Lozada A.F., Beckman A.L., Panula P. (2003) Intrahippocampal histamine delays arousal from hibernation. Brain Res, **966**(2), 317–320. doi: 10.1016/s0006-8993(02)04235-x.

Sellayah D, Bharaj P, Sikder D. (2011) Orexin is required for brown adipose tissue development, differentiation, and function. Cell Metab, **14**(4), 478–490. doi: 10.1016/j.cmet.2011.08.010.

Shintani M., Tamura Y., Monden M., Shiomi H. (2005a) Characterization of N(6)-cyclohexyladenosine-induced hypothermia in Syrian hamsters. J Pharmacol Sci, **97**(3), 451–454. doi: 10.1254/jphs.sc0040178.

Shintani M., Tamura Y., Monden M., Shiomi H. (2005b) Thyrotropin-releasing hormone induced thermogenesis in Syrian hamsters: site of action and receptor subtype, Brain Res, **1039**(1–2), 22–29. doi: 10.1016/j.brainres.

Stanton T.L., Caine S.B., Winokur A. (1992) Seasonal and state-dependent changes in brain TRH receptors in hibernating ground squirrels, Brain Res Bull, **28**(6), 877–886. doi: 10.1016/0361-9230(92)90208-f.

Szymusiak, R. (2018) Chapter 20 - Body temperature and sleep. Handbook of Clinical Neurology, **156**, 341–351. Elsevier B.V. doi: 10.1016/B978-0-444-63912-7.00020-5.

Tamura Y., Shintani M., Nakamura A., Monden M., Shiomi H. (2005) Phase-specific central regulatory systems of hibernation in Syrian hamsters. Brain Res. **1045**(1–2), 88–96. doi: 10.1016/j.brainres.

Tamura T., Monden M., Shintani M., Kawai A., Shiomi H. (2006) Neuroprotective effects of hibernation-regulating substances against low-temperature-induced cell death in cultured hamster hippocampal neurons. Brain Res, **108**(1), 107–116. doi: 10.1016/j.brainres.2006.06.020.

Tamura Y, Shintani M, Inoue H, Monden M, Shiomi H (2012) Regulatory mechanism of body temperature in the central nervous system during the maintenance phase of hibernation in Syrian hamsters: involvement of β-endorphin. Brain Res, **1448**, 63–70. doi: 10.1016/j.brainres.2012.02.004.

Thakkar, M.M., Engemann, S.C., Walsh, K.M., Sahota, P.K. (2008) Adenosine and the homeostatic control of sleep: effects of A1 receptor blockade in the perifornical lateral hypothalamus on sleep-wakefulness. Neuroscience, **153**(4): 875–80. doi: 10. 1016/j.neuroscience.2008.01.017.

Ticho S.R., Radulovacki M. (1991) Role of adenosine in sleep and temperature regulation in the preoptic area of rats. Pharmacol Biochem Behav, **40** (1), 33–40. doi: 10.1016/0091–3057(91)90317-u.

Tupone D., Madden C.J., Cano G., Morrison S.F. (2011) An orexinergic projection from perifornical hypothalamus to raphe pallidus increases rat brown adipose tissue thermogenesis. J Neurosci, **31** (44), 15944–15955. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3909–11.2011.

Tsushima H., Mori M., Fujiwara N., Moriyama A. (2003) Pharmacological characteristics of bombesin receptor mediating hypothermia in the central nervous system of rats. Brain Res, **969** (1–2), 88–94. doi: 10.1016/s0006–8993(03)02281–9.

Voronova I. P. (2021) 5-HT Receptors and Temperature Homeostasis. Biomolecules, **11** (12), 1914. doi: 10.3390/biom11121914.

Wada E., Watase K., Yamada K., Ogura H., Yamano M., Inomata Y., Eguchi J., Yamamoto K., Sunday M.E., Maeno H., Mikoshiba K., Ohki-Hamazaki H., Wada K. (1997) Generation and characterization of mice lacking gastrin-releasing peptide receptor. Biochem Biophys Res Commun, **239**(1), 28–33. doi: 10.1006/bbrc.1997.7418.

Wang Z., Tang B., TangF., Li Y., Zhang G., Zhong L., Dong C., He S. (2015) Protection of rat intestinal epithelial cells from ischem ia/reperfusion injury by (D-Ala2, D-Leu5) -enkephalin through inhibition of the MKK7-JNK signaling pathway. Mol Med Rep, **12** (3), 4079–4088. doi: 10.3892/mmr.2015.3991.

Wang S.Y., Duan Y.L., Zhao B., Wang X.R., Zhao Z., Zhang G. M. (2016) Effect of delta opioid receptor activation on spatial cognition and neurogenesis in cerebral ischemic rats. Neurosci Lett, **620**, 20–26. doi: 10.1016/j.neulet.2016.03.035.

Yamanouchi K., Yanaga K., Okudaira S., Eguchi S., Furui J., Kanematsu T. (2003) [D-Ala2, D-Leu5] enkephalin (DADLE) protects liver against ischemia-reperfusion injury in the rat. J Surg Res, **114**, 72–77. doi: 10.1016/S0022–4804(03)00196–3

Zhou A., Bloomquist B.T., Mains R.E. (1993) The prohormone convertases PC1 and PC2 mediate distinct endoproteolytic cleavages in a strict temporal order during proopiomelanocortin biosynthetic processing. J Biol Chem, **268**(3), 1763–1769. doi: 10.1016/S0021–9258(18)53918–1.