

## 高所飼育マウスの熱産生と脱馴化

柳 平 坦 徳・檜 村 修 生・酒 井 秋 男・竹 岡 み ち 子  
金 子 み ち 代・浅 野 功 治・米 川 正 利・上 田 五 雨  
信州大学医学部環境生理学教室

### Thermogenesis and Deacclimatization in Mice Raised at High Altitude

Yasunori YANAGIDAIRA, Osamu KASHIMURA, Akio SAKAI, Michiko TAKEOKA,  
Michiyo KANEKO, Koji ASANO, Masatoshi YONEKAWA and Gou UEDA

*Department of Environmental Physiology, School of Medicine, Shinshu University Matsumoto, Japan*

**Abstract :** The male mice were raised in the tent of Yatsugatake laboratory (2,400m above the sea level), YG, for about one month from October to November in 1986 and in the laboratory of matsumoto (610m above the sea level), MG. The average ambient temperature ( $T_a$ ) at Yatsugatake was  $2.3^{\circ}\text{C}$  ( $-6.5 \sim 12^{\circ}\text{C}$ ) and that for MG was set at  $20^{\circ}\text{C}$  ( $19 \sim 21^{\circ}\text{C}$ ). The body weights in YG did not differ from those in MG until 12 days after transfer to the high altitude, but were smaller than those of MG on the 22nd and 34th days ( $P < 0.05$ ). On the first day after return to 610m, the oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ) of YG measured at a simulated altitude of 2,400m was significantly higher than that of MG only at  $T_a$  of  $0^{\circ}\text{C}$ . At  $T_a$  except  $30^{\circ}\text{C}$ , the values of colonic temperature ( $T_{col}$ ) in YG was higher than those in MG ( $P < 0.05$ ). The measurement was taken under  $T_a$  changed from  $30$  to  $0^{\circ}\text{C}$  at intervals of  $10^{\circ}\text{C}$ . On the 2nd day after return to 610m, the value of  $\dot{V}O_2$  measured at 610m in YG was significantly higher than that in MG only at  $T_a$  of  $10^{\circ}\text{C}$ .  $T_{col}$  at  $10$  and  $20^{\circ}\text{C}$  in YG were higher than those in MG ( $P < 0.05$ ). Metabolic sensitivity to noradrenaline (NA) was greatly increased in YG when measured within 2 days after return to 610m, whereas no such effect was proved in MG and YG during the time course of deacclimatization. The interscapular brown adipose tissue (IBAT) weight had a tendency to alter in the similar way as NA-induced  $\dot{V}O_2$  change.

**Key words :** thermogenesis, deacclimatization, brown adipose tissue

熱産生, 気候脱馴化, 褐色脂肪組織

#### はじめに

著者らは先に夏期に八ヶ岳(標高2400m、平均気温 $10^{\circ}\text{C}$ )で飼育したラットの熱産生を調べ、対照飼育ラット(標高610m、平均外気温 $20^{\circ}\text{C}$ )のそれと比較した<sup>1)</sup>。その結果、高所で飼育されたラットの熱産生量は対照群のそれを著しく上回り、その増加は高所における低温環境によるものであることを報告した。寒冷馴化ラットではその熱産生は非ふるえ熱産生(NST)に依存し、特に褐色脂肪組織(BAT)からのNST

は、その血流量、チトクロームオキシダーゼ活性からみて全体のNSTの約70%になることが知られている<sup>2)3)</sup>。一方マウスではNSTに関与するBATの割合はラットより少なく、チトクロームオキシダーゼ活性から推測された値では約40%程度である<sup>4)</sup>。このようなBAT熱産生の差を反映してか、寒冷馴化マウスに関する熱産生<sup>5)</sup>および寒冷耐性<sup>6)</sup>などの報告は非常に少ない。著者らは高所飼育ラットで認められた熱産生増加の現象がマウスでも認められるか、高所における馴化が温度性かまたは低圧性であるかなどを知るた

め、高所飼育後、人工気象室に持ち帰り種々の環境条件下でそれらの動物の熱産生を検討した。さらに低地に戻した後の脱馴化過程についても検討を加えた。

#### 材料および方法

1986年10月7日～11月9日までの約1ヶ月間、八ヶ岳の黒百合平（標高2400m）の実験用テント内で体重13～15g程度の幼体雄マウス50匹が飼育された（この群を YG と略す）。この間のテント内の気温は最高12℃、最低-6.5℃を示しその平均気温は2.3℃となった。マウスの体重測定は松本から八ヶ岳に移されてから3、12、22および34日目にそれぞれ行われた。また対照群のマウスは松本（610m）の恒温動物室（20±1℃）で50匹飼育された（この群を MG と略す）。34日間飼育後、八ヶ岳からこれらの動物を松本まで約4時間で持ち帰り、2400m、2℃の人工気象室に移し約8時間その環境下に暴露、馴化させた後、3日以内に各種条件下で対照群との比較がなされた。測定項目は体重、酸素消費量（ $\dot{V}O_2$ ）、結腸温（Tcol）などである。実験は4段階の過程で行われた。実験1では人工気象室の気圧を高所飼育時の563 mmHg（2400m相当）に一定させ、外気温を30℃から始めて20、10、0℃の各温度下で上記の項目を測定した。この実験群は測定終了後610m、20℃の恒温室で飼育され、610mに戻された YG は20日および40日後にも同じ測定がなされ、脱馴化の過程が検討された。実験2では気圧を704 mmHg（610m相当）にして外気温のみを実験1と同様に変化

させた。実験3では外気温を20℃一定とし、気圧を704 mmHg、563 mmHg および462 mmHg（4000m相当）に変化させた。実験4ではノルアドレナリン（NA）感受性測定のため外気温25℃、気圧704 mmHgとし、NA 500μg/kg 皮下投与前および投与後（30分）の $\dot{V}O_2$  および Tcol 値の測定がなされた。この実験は YG マウスを610mに戻した後、2、21および41日目にも同様な測定がなされた。なお各実験において YG、MG マウスとも10匹ずつが実験に使用された。各実験が終了したマウスはエーテル麻酔後、採血によって死亡させられた。肩甲骨間からは褐色脂肪組織（IBAT）が摘出され、その重量の測定がなされた。 $\dot{V}O_2$  測定には開放式代謝測定装置が用いられた。動物は無固定でプラスチック容器（300ml）内に入れられた。O<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub> 呼気ガスモニター 1 H21（三栄測器）は1分間200ml 吸引量をもつため、容器とこのモニターはシリコンチューブを介して直接に接続された。またモニターの out put からデータは記録計に記録され、それらの値は STPD に補正された。なお動物を入れる容器は5セット用意された。動物はその内で200 ml/min の換気を受け安静および呼気ガス濃度安定のために約40分間の馴化時間をもった。さらに測定するまでには各気圧と、各気温の馴化時間に60分を要し、10℃の温度変化には約20～30分の時間を必要とした。 $\dot{V}O_2$  測定5分後、Tcol 測定のため、サーミスタープローブが肛門より約4 cm挿入された。

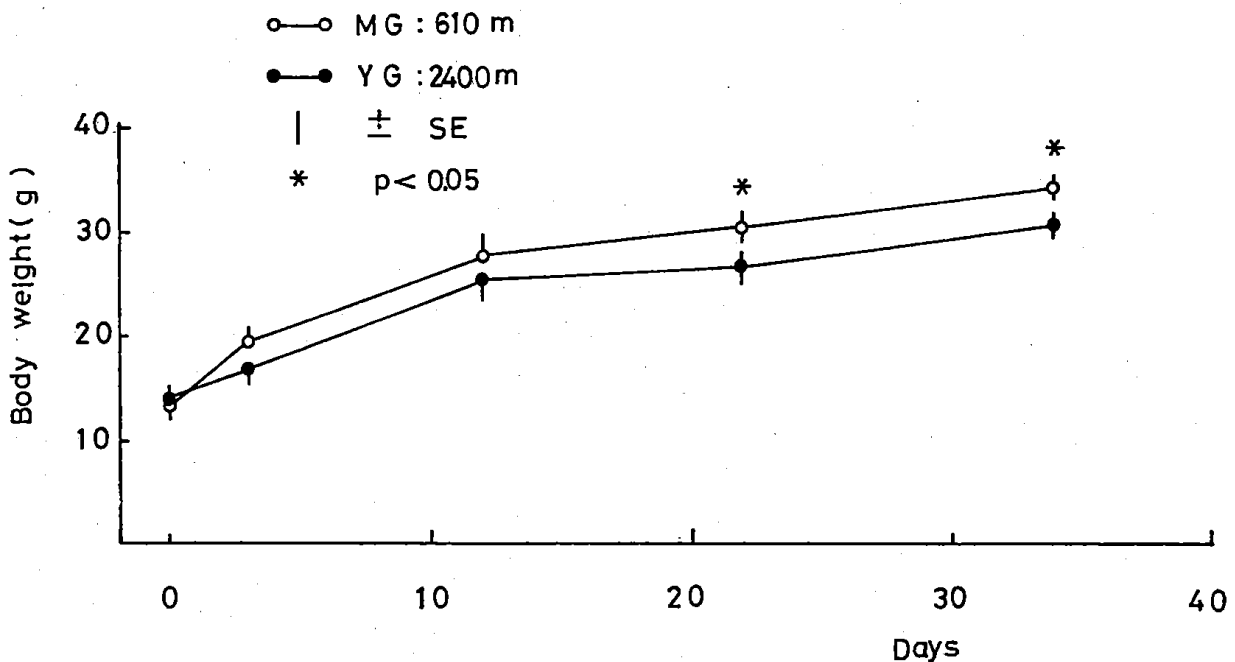


Fig.1. Body weight of the mice raised at Mt.Yatsugatake ( YG ) and at Matsumoto ( MG ).

結 果

高所飼育期間における体重

Fig.1 は高所飼育期間中のマウス ( YG ) と対照群 ( MG ) の体重の成長過程を示す。 YG の値は高所移住後、絶対値では減少していないが、MG の値と比較して3日目から低値を示し、22、34日めではMG の値より有意に低い値を示していた (  $P < 0.05$  )。

実験1における  $\dot{V}O_2$ , Tcol

実験1は YGマウスを610mに戻した後すぐに2400 m、2℃の人工気象室に移し約8時間、その環境下に再馴化させた後、最初に2400m、30℃の環境条件下にMG マウスとともにさらに1時間以上暴露させた後、 $\dot{V}O_2$ , Tcol の測定が始められた。測定は30、20、10、0℃の各温度条件 ( 気圧は2400m相当一定 ) で行われた ( Fig. 2 )。  $\dot{V}O_2$  に関しては両群間で有意差のみられたのは外気温0℃の温度下のみであった。しかし Tcol

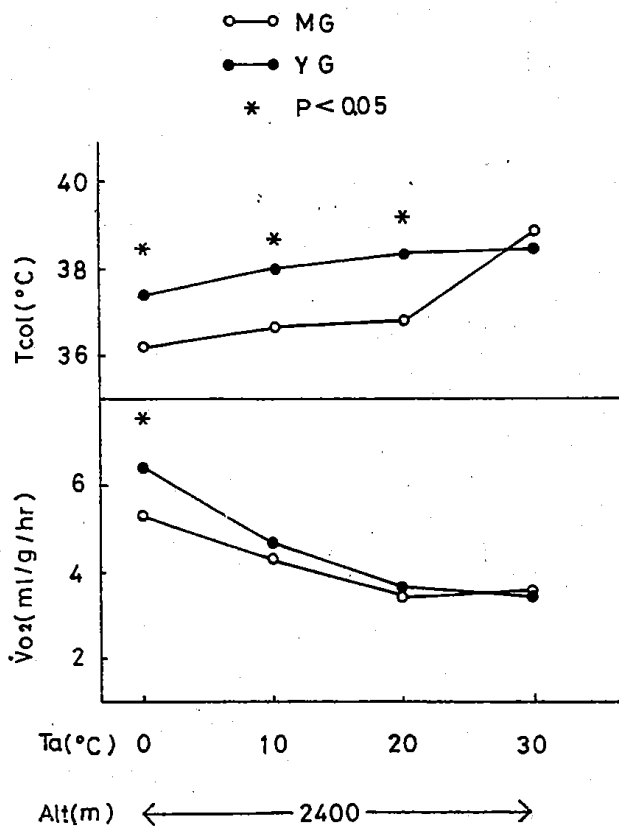


Fig.2. Oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ) and colonic temperature ( Tcol ) in YG on the 1st day after return to 610m and in MG. Measurements were made at 2400m ( 563 mmHg ) and at different temperatures ( 0, 10, 20, and 30℃ ).

では外気温30℃を除く20、10および0℃の気温下で YG > MG (  $P < 0.05$  ) が示された。なおこの実験シリーズでなされた YG マウスにおける脱馴化過程、20日および40日目の再実験では両群間において  $\dot{V}O_2$ , Tcol とともに全く差は認められていなかった ( 図は省略 )。

実験2における  $\dot{V}O_2$ , Tcol

Fig. 3 は610m相当の気圧下で外気温のみを変化させた際の  $\dot{V}O_2$ , Tcol の値を YG および MG で比較したものである。  $\dot{V}O_2$  値では10℃の外気温下で YG > MG (  $P < 0.05$  ) が認められたが、他の外気温下では差が認められなかった。 Tcol では10および20℃の外気温下ではやはり YG > MG (  $P < 0.05$  ) が認められた。なおFig.4 は YG においては2400m相当の気圧下の値 ( Fig.2 ) を用い、MG においては610m相当の気圧下の値 ( Fig.3 ) を用いて、両群間の  $\dot{V}O_2$ , Tcol 値を比較したものである。この図では、 $\dot{V}O_2$  において外気

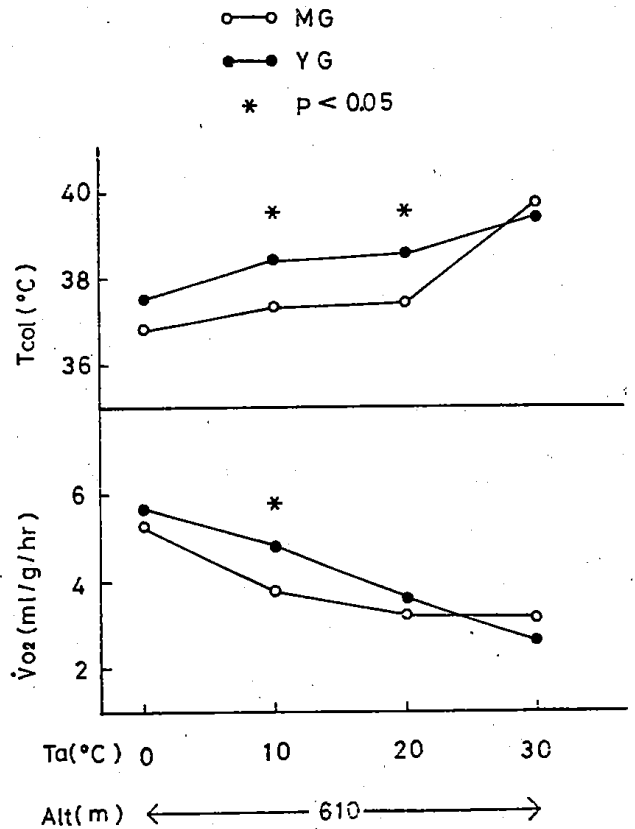


Fig.3. Oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ) and colonic temperature ( Tcol ) in YG on the 2nd day after return to 610m and in MG. Measurements were made at 610m ( 704 mmHg ) and at different temperatures ( 0, 10, 20, and 30℃ ).

温 0℃時のみ YG > MG (P < 0.05) が認められ、Tcol には両群間に差は認められていない。

実験 3 における  $\dot{V}O_2$ , Tcol

Fig. 5 は外気温を 20℃一定とし、気圧のみを図のごとく変化させ、YG および MG 両群の  $\dot{V}O_2$ , Tcol を比較したものである。有意差が認められたのは Tcol において 4000m 相当の気圧下で YG > MG (P < 0.05) を示したのみであった。

実験 4 における  $\dot{V}O_2$ , Tcol

Fig. 6 は NA 投与 30 分後に得られた値から投与前の値を引いた分、すなわち NA 投与による増加量を  $\dot{V}O_2$ , Tcol 値でみたものである。YG は 610m に戻された翌

日では  $\dot{V}O_2$  では MG の約 2 倍の増加量を示し (P < 0.01)、Tcol でも MG より 0.14℃ 高いが、こちらは有意の増加とはならなかった。しかし脱馴化過程の 21、41 日目では両群間に全く差は認められなかった。

肩甲骨間褐色脂肪組織 (IBAT) 量の脱馴化過程

Fig. 7 は YG マウスの IBAT 重量を 2400m の八ヶ岳から 610m の松本に戻した翌日 (2 日目)、20 日目および 40 日目で MG マウスのそれと比較したものである。2 日目の値では YG > MG (P < 0.01) であったが、20 日目では両群間に有意の差は認められず、40 日目では逆に MG の値が YG の値をやや上回っていた。

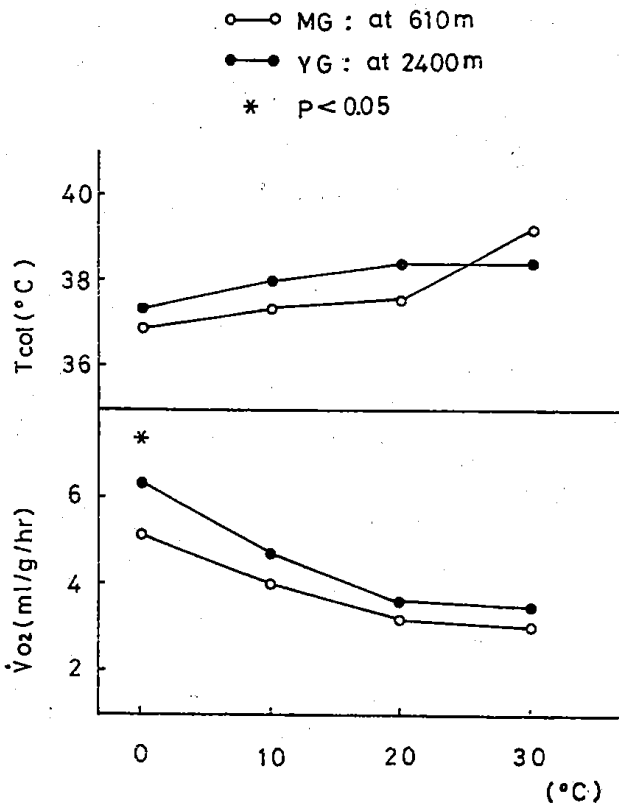


Fig. 4. Oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ) and colonic temperature (Tcol) in YG on the 1st day after return to 610m and in MG. Measurements were made at 2400m (563 mmHg) in YG and at 610m (704 mmHg) in MG, and at different temperatures (0, 10, 20 and 30℃).

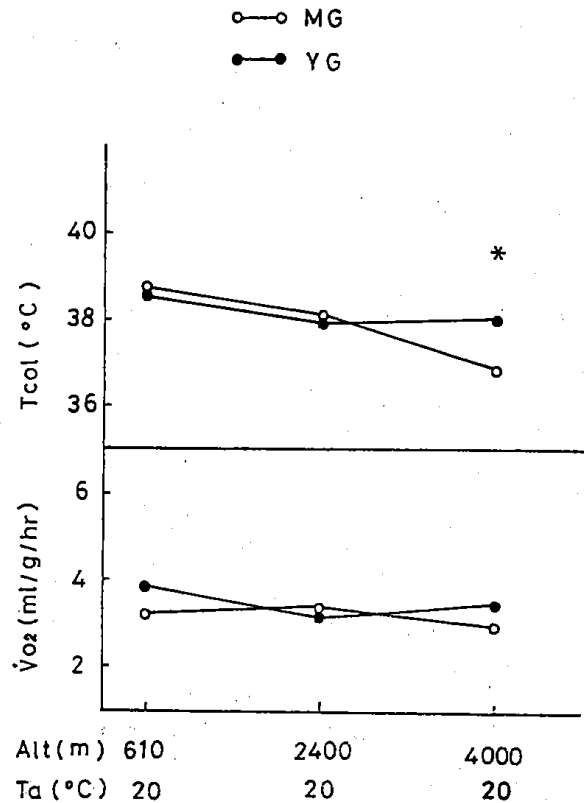


Fig. 5. Oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ) and colonic temperature (Tcol) in YG on the 3rd day after return to 610m and in MG. Measurements were made at 20℃ and three different stimulated altitudes of 610, 2400 and 4000m (462 mmHg).

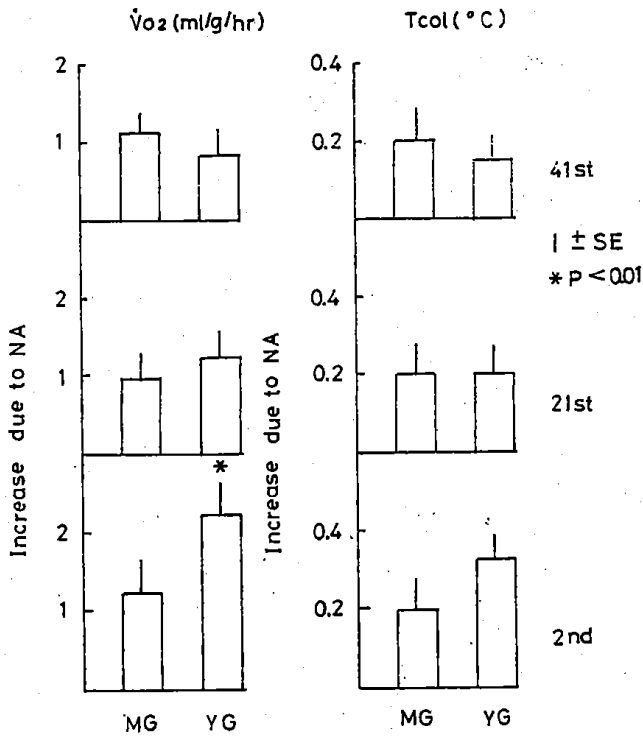


Fig.6. Deacclimatization in oxygen consumption ( $\dot{V}o_2$ ) and colonic temperature (Tcol) measured after 30 minutes of subcutaneous injections of 0.5mg/kg noradrenaline (NA) between YG and MG on the 2nd, 21st and 41st days after return to 610m. The measurements were made at 25°C.

考 察

本実験の目的は、比較的軽度な2400mの高度で飼育されたマウスの熱産生代謝が610m、20°Cの松本で飼育された対照マウスのそれと比較して亢進しているかどうかを調べると共にその要因についても追求しようとするものである。前述のごとく、2000~2400mの八ヶ岳で飼育されたラットではその熱産生は610m、20°Cの平地で飼育された対照群のそれと比較して著しく高い値を示すこと<sup>7)</sup> およびノルアドレナリン感受性とBAT量の増加が平行的であることから<sup>1)</sup>、ラットにおける高所飼育は、高所における低温が動物に低温馴化をもたらしたものと考えられた。しかし低圧、低酸素に関する馴化は $\dot{V}o_2$ 、Tcolの変化からは求められなかった。本実験は10月から11月にかけて高所飼育が行われ、平均外気温も2.3°Cとかなりの低温飼育となったため、低温馴化がマウスに認められるのは当然予想される。事実Fig.2ではTaが0°C、Fig.3ではTaが10°C、Fig.4ではTaが0°Cの際にそれぞれ、 $\dot{V}o_2$ の値はYG > MG (P < 0.05)を示し、低温度下での

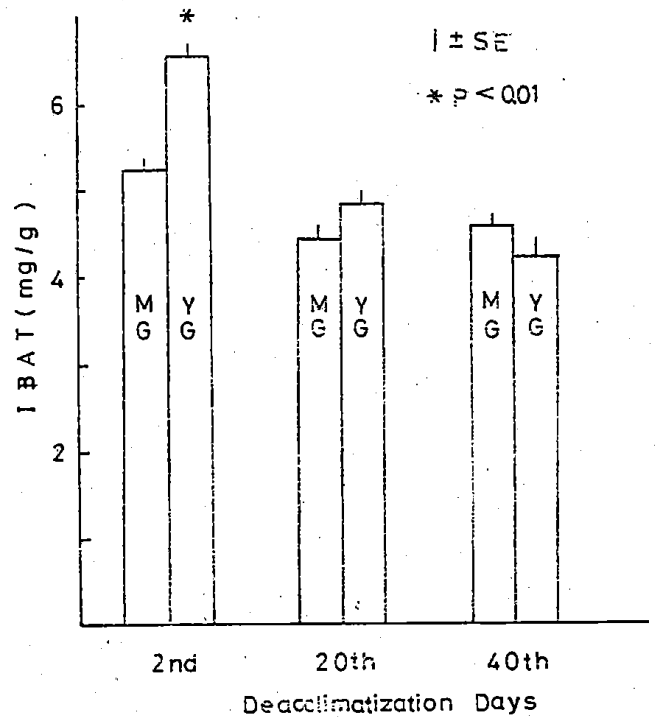


Fig.7. Deacclimatization in relative interscapular brown adipose tissue (IBAT) weight between YG and MG on the 2nd, 20th and 40th days after return to 610m.

熱産生は八ヶ岳で飼育された個体群で増加している。さらにFig.6でのノルアドレナリン感受性は $\dot{V}o_2$ に関しては平地(610m)に戻した2日目でYG > MG (P < 0.01)を示し、同様にFig.7での肩甲骨間褐色脂肪組織重量もYG > MG (P < 0.05)となった。これらの結果は明らかに八ヶ岳で飼育されたマウスが低温馴化(特に非ふるえ熱産生の亢進)したことを照明するものである。一方体温の指標として測定された結腸温(Tcol)については、外気温の変化のみならず気圧の影響がマウスの場合かなり認められた。例えばFig.2では高度2400m相当の気圧で両群間のTcol値を比較しているが、最初動物にとって中性温度に近い30°Cから20°Cに低下させた際、MGのTcol値はYGと比較して約2°Cも減少する。この間の $\dot{V}o_2$ 値には両群間で有意差は認められていない。またFig.5では最初から外気温を20°C一定として気圧を4000m相当まで低下させた際には2400m時にはTcol値に差は認められず、4000m時にYG > MG (P < 0.05)という結果を示した。これらの結果は低温馴化の他にMGマウスでは始めて経験する低圧または低酸素時にみら

れる小動物の変温性<sup>8)</sup>が Tcol 値を減少させたとして解釈することもできる。一方 YG マウスでは2400mの高所で飼育され、低圧、低酸素に馴化したため低気圧に対する Tcol の減少が少なかったと考えることができる。また動物の熱放散を無視して熱産生だけから Tcol 値を考えると  $\dot{V}O_2$  値と Tcol 値は必ずしも比例していないことがわかる (Fig. 2 Fig. 5)。これまでの考察は全て YGマウスを610mの平地に戻した後の3日以内に行われた結果から推定したものである。著者らは、高所飼育により求められた気候馴化が平地環境に戻された後、いつ消失されるかについても検討を試みた。実験1で行われた条件下で脱馴化の過程を20、40日目で検討した結果、YGとMGとの間には  $\dot{V}O_2$  および Tcol 値において全く差が認められなかった。また実験4におけるノルアドレナリン感受性による<sup>9)</sup> 同様な測定においても、さらに実験5における IBAT 量にも<sup>10)11)</sup> 脱馴化過程で両群間に差は見出せなかった。

本実験では、YGマウスを610mの平地に戻して3日以内にその熱産生を測定し MG マウスと比較して YG > MG の結果を得た。しかし、その増加量はラット<sup>1)</sup> より少なかった。一方 Tcol 値に関しては YG > MG がかなりはっきり証明された。前述した変温性の問題以外に、基本的には体温の値は熱産生と放熱のバランスによって決められる。そのため YG の熱放散量

が低温環境下で少なくなっていることが充分予想される。Barnett (1959)<sup>12)</sup> は三系統のマウスについて低温馴化による毛の重量が動物の断熱性を増強させると述べている。著者らも 5℃の低温馴化マウスで毛皮重量がやや増加すること<sup>6)</sup>、野生ネズミ類<sup>13)14)</sup> では寒冷環境下に生息する個体ほど毛皮、毛の量が増加し、下毛または冬毛なども増加することなどを報告している。ラットに関しては毛皮などの発達は1ヶ月程度の低温飼育では明らかにされていないが、4ヶ月寒冷馴化ラットでは毛皮重量の増加傾向が認められ、逆に熱産生増加の停止傾向がみられている<sup>15)</sup>。マウスとラットの寒冷耐性は寒冷馴化によってそれぞれ増強されるが、その様式は熱産生中心のラットに比較してマウスでは熱産生の他に毛皮などの防熱機構の発達がありそうである。またラットでははっきりしなかった低圧馴化が本実験のマウスでは Tcol 値の変化から充分推測される。いかえれば YG マウスでは低圧低酸素下における変温性が消失したということが出来る。確かに標高2400mの高所で飼育されたマウスの熱産生は対照群のそれより平地に戻された3日以内では増強されている。しかし、その馴化も20日以内には全く失われてしまうことも間違いない。すなわち、高所での低温、低圧馴化はかなり早期に消失してしまうものであろう。

## 文 献

- 1) Yanagidaira, Y., Ueda, G., Yonekawa, M. and Kaneko, M. : Thermogenesis in rats reared at altitude of 2,400m. *J. Growth*, 28: 27-36, 1989
- 2) Foster, D. O. and Frydman, M. L. : Nonshivering thermogenesis in the rat. 2. Measurements of blood flow with microspheres point to brown adipose tissue as the dominant site of the calorogenesis induced by noradrenaline. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 56, 110-122, 1978
- 3) Pospíšilová, D. and Janský, L. : Effect of various adaptational temperatures on oxidative capacity of the brown adipose tissue. *Physiol. Bohemoslov.*, 25, 519-527, 1976
- 4) Janský, L. : Thermoregulatory responses to cold stress of various intensity. *Arch. Exper. Vet. Med.*, 38, 353-358, 1984
- 5) LeBlanc, J., Robinson, D., Sharman, D. F. and Tousignant, p. : Catecholamines and Short-term adaptation to cold in mice. *Am. J. Physiol.*, 213, 1419-1422, 1967
- 6) 柳平坦徳, 上田五雨 : 小哺乳類における産熱および防熱機構 (7) 寒冷暴露マウスの寒冷耐性 成長21, 42-48, 1962
- 7) 柳平坦徳 : 低温および低圧変化に対する高所順応ラットの産熱反応 日本生理誌 45, 134-144, 1983
- 8) Bhatia, B., George, S. and Rao, T. L. : Hypoxic poikilothermia in rats. *J. Appl. Physiol.*, 27, 583-586, 1969
- 9) Himms-Hagen, J. : Regulation of metabolic processes in brown adipose tissue in relation to nonshivering thermogenesis. *Advances Enz. Regul.* 8, 131-151, 1970
- 10) Moriya, K., Yahata, T. and Kuroshima, A. : Lasting consistency of cold adaptability in rats reared in cold

## 高所飼育マウスの熱産生と脱馴化

for many generations. *Jpn. J. Physiol.*, 35, 423-442, 1985

- 11) Doi, k. and Kuroshima, A. : Lasting effect of infantile cold experience on cold tolerance in adult rats. *Jpn. J. Physiol.*, 29, 139-150, 1979
- 12) Barnett, S. A. : The skin and hair of mice living at a low environmental temperature. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 44, 43-51, 1959
- 13) Yanagidaira, Y., Ueda, G., Motoyama, T., Sakai, A. and Yonakawa, M. : Climatic adaptation in thermogenesis and thermal insulation in wood mice (*Apodemus argenteus*) . *Jn. J. Physiol.*, 39, 229-240, 1989
- 14) 柳平坦徳, 内川公人 : 小哺乳類における産熱および防熱機構 (9) アカネズミの毛皮重量と季節変化 26, 19-27, 1987
- 15) Yanagidaira, Y. and Ueda, G. : Relationship between thermogenesis and thermal insulation to climatic and cold acclimation in small mammals. In : *High-altitude Medical Science*, ed by G.Ueda, S.Kusama and N. F.Voelkel. Shinshu Univ. Press pp. 381-385, 1988