

寒冷馴化ラットの非ふるえ熱産生亢進に与える 運動トレーニングの影響

榎村修生*・柳平坦徳*・上田五雨*

*信州大学医学部環境生理学教室

Effects of Physical Training on Enhanced Nonshivering Thermogenesis in Cold Acclimated Rats

Osamu KASHIMURA*, Yasunori YANAGIDAIRA* and Gou UEDA*

*Department of Environmental Physiology, Shinshu University School of Medicine

Abstract : This study suggested that the effects of physical endurance training on nonshivering thermogenesis to acute cold exposure in male rats acclimated at cold environmental temperature.

Four groups, each 10, rats were experimented after 12 weeks under the following conditions ; sedentary warm-rats (W) were acclimated at cold environmental temperature, sedentary cold-rats (C) were acclimated at cold environmental temperature, warm trained-rats (WT) were acclimated at warm environmental temperature, and cold trained-rats (CT) were acclimated at warm environmental temperature, and cold trained-rats (CT) were acclimated at cold environmental temperature, respectively.

During exposure to cold, responses of the metabolic rate and colonic temperature of WT, C and CT were greater than that of W. During exposure to cold, the responses of oxygen consumption after hexamethonium injection decreased in C, and increased in WT. Increments of the metabolic and thermal responses after noradrenaline administration in W and WT were smaller than those of C and CT. Both the increments of CT were smaller than those of C. After 12 weeks, the total weight and fat free dry matter content of the brown adipose tissue in WT decreased compared with C and CT. The lipid content of the brown adipose tissue in WT decreased in comparison with that in W. Rises of the free fatty acids after noradrenaline administration in C and CT groups were greater than those in W and WT groups, respectively.

It appears, that the thermogenic factors other than noradrenaline-induced nonshivering thermogenesis may contribute to the enhanced thermogenesis to cold in trained rats. Also, in consequence of the physical endurance training, the enhanced thermogenesis during acute cold exposure in CT was partly replaced with the thermogenic factors other than the nonshivering thermogenesis to noradrenaline.

Key words : noradrenaline-induced thermogenesis, physical training, cold acclimation, tolerance to cold
ノルアドレナリン依存性熱産生, 運動トレーニング, 寒冷馴化, 耐寒性

はじめに

ラットにおいて、寒冷馴化¹⁾および持久的運動トレーニング²⁾は、それぞれ急性寒冷時の熱産生亢進を増大、つまり全身耐寒性を増強させることが報告され

ているが、寒冷馴化と運動トレーニングでは、その熱産生機序に相違点がみられることも明確になりつつある。その両者の相違点は、寒冷馴化がNoradrenaline (NA) 依存性の非ふるえ熱産生 (NST) の増大を示す¹⁾のに対し、運動トレーニングはその熱産生機序の詳細

な検討がなされておらず、NAによるNST以外の増大いわゆる寒冷馴化初期状態の熱産生機序の増大にある慢性寒冷暴露初期から持続的トレーニングを実施した寒冷馴化ラットは、寒冷馴化初期および完成期のそれと推察されている⁹⁾。このことから、慢性寒冷暴露初期から持続的トレーニングを実施した寒冷馴化ラットは、寒冷馴化初期および完成期のそれぞれ違った熱産生機序が亢進し、全身耐寒性はさらに増すことが期待される。

目的は、持続的運動トレーニングによる急性寒冷暴露時の熱産生亢進、つまり全身耐寒性の機序を明らかにするため、寒冷馴化の完成と並行して実施した持続的トレーニングは、寒冷馴化完成つまりNA依存性のNSTにどのような影響をおよぼすかを検討した。

実験方法

実験動物は、5週令のWistar系雄ラット40匹を用い、それぞれの10匹ずつ4条件に分け11週間飼育した。

(1) 温暖化対照群 (以下W群) : 室温25.0±1.0℃で安静飼育した。(2) 寒冷馴化群 (C群) : 4.0±0.5℃で飼育した。(3) 温暖馴化トレーニング群 (WT群) : 25.0±1.0℃で飼育し、トレーニングを実施した。(4) 寒冷馴化トレーニング群 (CT群) : 4.0±0.5℃で飼育し、トレーニングを実施した。トレーニングは、小動物用トレッドミルを用い、飼育1週目が走行速度20m/minで40分間、2週目から30m/minで40分間、それぞれ1日1回週5回実施した。また、トレーニング時の室温は25.0±1.0℃であった。なお、餌 (オリエンタル

MF) および水は自由摂取とした。実験に際しては、実験前約24時間の絶食と気温25.0℃暴露を実施した。

1) 急性寒冷暴露時の熱産生量測定

気温25および0℃において、ラットの酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$) は開放式 $\dot{V}O_2$ 測定装置 (空気流量350ml/min) で測定した。

2) 交感神経節遮断による寒冷暴露時の $\dot{V}O_2$

気温25℃および0℃時で $\dot{V}O_2$ を測定後、0℃暴露中、交感神経節遮断剤であるHexamethonium (東京化成)、0.28mg/100g体重を腹腔内に投与後、25から30分および55から60分目の $\dot{V}O_2$ を測定した^{4,5)}。

3) NA投与によるNST推定¹⁾および血漿FFA濃度

NSTの推定は、気温25℃無麻酔1-NA bitartrate (和光純薬) を40μg/100g体重 尾静脈内に投与後、15から20分目の $\dot{V}O_2$ およびTcolの測定から求めた血漿FFA測定は、NA投与30分後の変化をみた。なお、対照値は、生理食塩水を投与した。血漿FFAの分析には、NEFA-テストワコー (和光純薬) を使用した。

4) 体重および臓器重量

ラットは、12週間飼育後体重を測定し、エーテル麻酔後腹大動脈より脱血し、心臓、副睪丸脂肪 (WAT) および肩甲骨間褐色脂肪 (IBAT) を摘出秤量した。そのうち、IBATは、Folch et al. の方法により110℃で4時間乾燥した後、脂肪を抽出し脂質量を求め、さらに除脂肪乾燥重量 (fat-free dry matter : FFDM) を求めた。

Table 1 Metabolic ($\dot{V}O_2$) : ml/kg/min and thermal (Tcol) : °C responses to cold and warm exposures.

Group	25 °C		0 °C		
	$\dot{V}O_2$	Tcol	$\dot{V}O_2$	Tcol	
W	\bar{X} SD	23.58 1.57	37.10 0.38	48.23** 2.81	37.48 0.21
WT	\bar{X} SD	27.43## 1.74	37.60## 0.30	53.18***## 4.15	37.96*# 0.21
C	\bar{X} SD	29.49## 2.62	36.50 1.70	54.28***## 3.49	38.22***## 0.23
CT	\bar{X} SD	31.90## 2.43	36.86 1.36	57.99 ***## 4.86	38.22 ***## 0.31
WT vs.C	N.S.		N.S.		p<0.05
WT vs. CT	p<0.01		N.S.		p<0.05
C vs. CT	N.S.		N.S.		N.S.

Statistically significant differences between 25°C and 0°C, and W and other groups : *p<0.05, **p<0.01, and # p<0.05, ## p<0.01, respectively N.S. : not significant

Table 2 The responses of oxygen consumption ($\dot{V}O_2$) to 0°C exposure after Hexamethonium (He) injection.

$\dot{V}O_2$ (ml/kg/min)		W	WT	C	CT
25°C	\bar{X}	22.00	24.50	29.26	33.15
	SD	2.03	2.70	4.00	3.21
0°C	\bar{X}	48.00	53.40	55.37	57.35
	SD	3.30	3.24	4.00	5.43
0°C,30min after He	\bar{X}	51.33	67.72**	51.61*	50.83
	SD	8.22	1.20	2.44	7.07
0°C,60min after He	\bar{X}	53.68	71.30**	53.34	51.60
	SD	8.45	1.28	3.05	6.32

Significant differences between $\dot{V}O_2$ to 0°C exposure and $\dot{V}O_2$ to 0°C exposure after He injection : *p<0.05, **p<0.01

Table 3 Effects of noradrenaline injection on plasma free fatty acids (FFA), oxygen consumption ($\dot{V}O_2$) and colonic temperature (Tcol) under 25°C air temperature.

		W	WT	C	CT
Saline					
FFA	\bar{X}	0.392	0.261**	0.260**	0.243**
	SD	0.049	0.041	0.069	0.032
$\dot{V}O_2$	\bar{X}	21.24	24.57*	24.49**	31.90**
	SD	3.04	3.24##	2.62	2.43@@
Tcol	\bar{X}	37.14	37.69*	36.53*	36.87
	SD	0.36	0.53##	0.44	0.48@@
Noradrenaline					
FFA	\bar{X}	0.644	0.468**	0.404**	0.387**
	SD	0.045	0.028##	0.055	0.012@@
$\dot{V}O_2$	\bar{X}	23.97	27.58	42.86**	43.83**
	SD	5.19	4.46##	1.29	2.08@@
Tcol	\bar{X}	37.89	38.47**	38.84**	39.14**
	SD	0.21	0.32	0.92	0.52@@
Increase (mEq/ml)					
FFA	\bar{X}	0.252	0.207*	0.404**	0.387**
	SD	0.047	0.035#	0.055	0.012@@
$\dot{V}O_2$	\bar{X}	2.73	3.01	42.86**	43.83**
	SD	0.50	4.46##	1.29	2.08@@
Tcol	\bar{X}	0.75	0.78**	38.84**	39.14**
	SD	0.30	0.50	0.92	0.52@@
Rate of increases (%)					
FFA	\bar{X}	64.3	79.3**	55.4*	59.3
	SD	12.0	13.4##	7.5	9.1@@
$\dot{V}O_2$	\bar{X}	12.9	12.4	45.3**	37.4**
	SD	5.0	4.3##	5.8	7.0#@
Tcol	\bar{X}	2.0	2.1	7.8**	5.3**
	SD	0.8	1.3##	1.5	2.6@@

** p<0.01, *p<0.05, : vs. W, ## p<0.01, # p<0.05, : vs. C

@@ p<0.01, @p<0.05, : vs. WT

FFA (mEq/l), $\dot{V}O_2$ (ml/kg/min), Tcol (°C)

Table 4 Composition of interscapular brown adipose tissue in each group.

Group		Total weight (mg/100g b · w)	Lipid (%)	FFDM (%)	Water (%)
W	\bar{X}	139.3	57.0	16.1	26.9
	SD	34.2**	6.1	4.4	5.1
WT	\bar{X}	123.2	45.6**	17.4	37.0**
	SD	21.4	5.2	4.8	7.4
C	\bar{X}	252.0**	44.0**	23.4*	32.6*
	SD	18.3	5.5	2.6	5.2
CT	\bar{X}	226.8**	34.7**	25.9*	39.4**
	SD	25.0	7.6	2.9	2.1
WT	vs.	p < 0.01	N.S.	p < 0.01	N.S.
WT	vs.	p < 0.01	p < 0.05	p < 0.01	N.S.
C	vs.	N.S.	p < 0.05	N.S.	p < 0.05

FFDM : fat-free dry matter

W : control group acclimated to warm, WT : trained group acclimated to warm, C : cold acclimated group, CT : trained group acclimated to warm, C : cold acclimated group, CT : trained group acclimated to cold

b · w : body weight

Statistically significant differences between W and other group : * p < 0.05, ** p < 0.01

N.S. : not significant

結 果

Table 1 は、気温25℃および0℃における $\dot{V}O_2$ をそれぞれの飼育条件で示した。気温25℃における安静時および0℃の $\dot{V}O_2$ は、W群より他群で有意に大きかった。気温0℃におけるTcolはW群に比較し他群で有意に高かった。また、気温0℃時のTcol上昇は、W群より他群で有意に大きかった。

Table 2 は、寒冷暴露時のHexamethonium (He) 投与後における $\dot{V}O_2$ を示した。He投与後の $\dot{V}O_2$ は、C群が投与後30分で有意に減少したが、WT群では30分および60分でそれぞれ有意に増加した。

Table 3 は、NA投与によるFFA濃度、および $\dot{V}O_2$ およびTcolの変化を示した。NA投与後のFFAは各群で上昇したが、その上昇率は、WT群 > W群 > CT群 > C群の順であった。 $\dot{V}O_2$ の亢進およびTcolの上昇は、WおよびWT群とCおよびCT群の間に有意差がみられ、またCよりCT群は減少傾向にあった。

12週間後における体重は、W群307.3±14.7g、WT群284.9±14.4g、C群273.8±22.2gおよびCT群251.7±7.5gであり、WとWTおよびCとCTの間にそれぞれ有意差が認められた。単位体重あたりの心臓重量は、W群28.6±1.3mg/kg、WT群31.6±1.8mg/kg、C群37.0±1.6mg/kg、CT群37.6±1.6mg/kg、WとWTおよびCとCTの間にそれぞれ有意差が認められた。WAT重量

は、W群29.01±2.81g/kg、WT群21.48±4.74g/kg、C群17.42±2.29g/kg、CT群13.80±1.91g/kgであり、WとWTおよびCとCTの間にそれぞれ有意差が認められた。

Table 4 は、IBAT重量および組成を示した。IBAT重量は、WとCおよびWTとCTの間に有意差がみられ、また、CとCTの間のIBAT内脂質量に有意差が認められた。

考 察

持久的トレーニングによる体重の減少率は、WとWT群の間では平均7.3%、CとCT群の間では平均8.1%であった。また、寒冷馴化による体重の減少率は、WとC群の間で平均10.9%、WTとCTの群の間で平均11.7%であった。WとCT群の体重の差つまり、寒冷馴化とトレーニングの組み合わせた場合の体重減少は、平均18.1%であり、寒冷馴化およびトレーニングを単独飼育条件としたときの体重減少の和とほぼ一致した。

ラットの体脂肪量の推定指標の一つであるWAT⁶⁾は、寒冷馴化やトレーニングによる体重減少の一部であり、トレーニングによるWATの減少が、WとWT群の間で平均31.3%およびCとCT群の間で平均27.2%であった。

単位体重あたりの心重量は、WよりWT群で、またCよりCT群で大きく心肥大を示し、持久的トレーニング効果が確認されたが、このことはすでに心室肥大であ

ることが報告されている。⁷⁾

2) BAT組成

BATはNST発現の主要部位であり、寒冷馴化ラットのBATは増大することが報告されている⁸⁾。本実験で、C群およびCT群のBAT重量は、W群に比較してそれぞれ平均80.9%および62.8%の増大であった。寒冷馴化によるBATの増大は、その組成でみると脂質、FFDMおよび水分それぞれ増大した。しかし、BAT重量は、WよりWT群、CよりCT群でそれぞれ18.0、16.1と減少するが、とくに寒冷暴露時の熱産生に最も関与すると思われるFFDMでは、WよりWT群、CよりCT群でそれぞれ18.8%、22.5%と有意ではないが、増大傾向にあり、持久的トレーニングによるBATの組成変化はWATと同様に脂質の減少であり、運動により交感神経系が刺激され、BAT内脂質のエネルギーとしての動員が繰り返された結果である⁹⁾と思われる。CT群は、BAT重量がW群より平均35.3%増大しているがC群より29.9%減少しており、これはトレーニングの影響であり、BAT内脂質の減少が主な原因と思われる。

BATにおけるNSTはNAより調節されており、寒冷馴化によりBATは肥大しNSTが促進することが報告されている⁹⁾。しかし、トレーニングラットの場合、BAT重量は減少しており寒冷暴露時のBATにおけるNSTの亢進は、期待できない。これは、Arnold et al.¹⁰⁾がトレーニングによりBATでの熱産生の亢進はないという報告と一致する。

3) 寒冷暴露時の熱産生亢進

気温25℃における安静時 $\dot{V}O_2$ は、W群に比較しWT群で平均15.7%の増大を示し、トレーニングによる影響と思われる。その $\dot{V}O_2$ は、W群よりC群で平均38.8%の増大をし、寒冷馴化の影響が示された。また、CT群の安静時熱産生は、トレーニングと寒冷馴化の両刺激効果として、W群に比較し平均50.2%の増大をした。この単位体重あたりの熱産生は、代謝活性を考慮に入れておらず、体重の中に占める代謝活性の高い除脂肪体重¹¹⁾たとえば筋肉などの割合が問題にされるべきである。気温0℃の寒冷暴露時、 $\dot{V}O_2$ は、W群に比較しWT、CおよびCT群で有意に高く、トレーニングおよび寒冷馴化により熱産生増大がそれぞれWT群平均10.3%、C群12.5%およびCT群で20.2%となり、全身耐寒性に優れていると思われる。

4) 交換神経節遮断剤投与による寒冷暴露時の熱産生⁷⁾⁹⁾

Hexamethonium投与後、寒冷暴露時のTcolはCおよびCT群で低下を示したのに対し、WT群で上昇を示し、W群ではほとんど変化を示さなかった。C群

は、寒冷暴露により交感神経末節から分泌されるNAが増大しNSTを増す¹²⁾が、その分泌を遮断することによりNSTが減少した。従って、寒冷馴化ラットでは、寒冷暴露に対してNAによるNSTが重要な役割を示していると考えられる。しかし、CT群はHexamethonium投与時の熱産生は減少傾向にあるが、有意差はなく、寒冷暴露時のNAによるNSTがC群よりやや減退することを示した。また、WT群は寒冷暴露時Hexa-methoniumにより熱産生の減少はまったく認められず、寒冷暴露時の熱産生増大がNAによるNST以外の因子¹⁾の関与を示唆させた。

5) NA投与による熱産生

寒冷馴化におけるNSTの促進は、交感神経すなわちNAの分泌増加により生じることが報告された。また、寒冷馴化ラットは、寒冷刺激により敏感にNAの分泌が増大し、さらにNA投与により敏感に代謝および体温が上昇と報告された^{3,13)}。つまり外因的NAを投与することにより、NSTの反応の程度はその感受性から推察できると思われる。CTおよびC群の熱産性は、W群より大きく、WT群では変化がなかった。また、その熱産生はC群よりCT群で小さく、トレーニングにより寒冷馴化で高められたNA感受性は抑制傾向を示した。従って、トレーニングラットは、寒冷暴露時のNAによるNST増大が期待できないと推察された。この結果は、前述した交感神経節遮断剤の投与実験と一致し、トレーニングラットは寒冷暴露時においてNA以外のNST¹⁾およびShivering熱産生が増大すると思われる。また、BATの増大はNAによるNSTの亢進と密接な関係があり、トレーニングラットにおいてBATの小さいことがNA投与によるNSTの増大の小さいことと関係するかもしれない。

6) NA投与による血漿FFA濃度の変化

寒冷馴化ラットは、NSTの亢進により耐寒性が亢進し、NAが主要な調節因子として働くが、また、寒冷馴化は、NAによりFFA濃度、turnover rateおよび酸化が著しく亢進し、NAの熱産生効果は、FFAをエネルギー気質として主に生じていることが報告されている¹⁴⁾。本実験から、NA投与による血漿FFA濃度は寒冷馴化により低くなり、トレーニングにより高くなった。Morita et al. は¹¹⁾、NA投与後におけるFFA濃度の上昇が寒冷馴化の場合小さく、これはFFA酸化速度の亢進が大きいことを報告した。本研究でも寒冷馴化の場合、NA投与後のFFA濃度の上昇は小さく、Moriya et al. の報告と一致するが、トレーニングによるその上昇は大きく、FFAの利用が少ないと推察される。また、寒冷馴化ラットは、トレーニングをすることよりNA

投与時のFFA利用は少なくなり、これはNA投与時の代謝感受性に促進がみられないことと一致する。今後、トレーニングラットにおける寒冷暴露およびNA投与時のFFA代謝回転についての検討も必要であろう。

要 約

寒冷に馴化した持続的トレーニングラットは、全身耐寒性にどのような影響を与えるか、とくにNAによるNSTの変化について検討した。

5週令のWistar系雄ラット40匹を用い、4条件に分け12週間飼育した。各条件は、(1)温暖対照群(W)(2)寒冷馴化群(C)(3)温暖馴化トレーニング群(WT)(4)寒冷馴化トレーニング群(CT)であった。

結果は次のとおりである。

1) 寒冷暴露時の $\dot{V}O_2$ およびTcolは、W群に比較し他群でそれぞれ有意に大きかった。

2) 寒冷暴露時、Hexamethonium投与により $\dot{V}O_2$ は、C群で有意に低下を示したが、WT群では有意な上

昇を示した。

3) NA投与による $\dot{V}O_2$ およびTcolの増大は、WおよびWTに比較しCおよびCT群で有意に大きく、また、C群に比較してCT群で小さい傾向を示した。

4) BAT重量は、W群に比較しWT群で有意に小さく、CおよびCT群で有意に大きかった。またBAT内脂質量は、W群に比較してWT群で有意に小さかった。

5) NA投与による血漿FFA濃度の上昇率は、WT>W>CT>C群の順であった。

以上の結果から、運動トレーニングラットは、寒冷暴露時温暖対照群に比較し熱産生が増大するが、その増大はNAに依存しないNSTおよびshivering熱産生が原因であると推察された。また、寒冷馴化トレーニングラットは、寒冷馴化ラットに比較しNAによるNSTが減少傾向にあるが、寒冷暴露時の熱産生はより亢進がみられることから、寒冷暴露時にNA非依存性NSTおよびshivering熱産生が増大する可能性が示唆された。

文 献

- 1) Jansky, L. : Nonshivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. *Biol. Rev.*, 48 : 85-132, 1973
- 2) Stromme, S.B., and Hammel, H.T. : Effects of physical training on tolerance to cold in rats. *J. Appl. Physiol.*, 23 : 815-824, 1967
- 3) LeBlance, J. and Pouliot, M. : Importance of noradrenaline in cold adaptation. *Am. J. Physiol.*, 207 : 853-856, 1964
- 4) Hsieh, A.C.L. and Carlson, L.D. : Role of adrenaline and noradrenaline in chemical regulation of heat production. *Am. J. Physiol.*, 190 : 243-246, 1957
- 5) Hsieh, A.C.L., Carlson, L.D. and Gray, G. : Role of the sympathetic nervous system in the control of chemical regulation of heat production. *Am. J. Physiol.*, 190 : 247-251, 1957
- 6) 大野都美恵, 黒島長凡 : 蔗糖添加過食による非ふるえ熱産生促進に関する研究. 20 : 55-60, 1983
- 7) Evonuk, E., and Hannon, J. P. : Cardiovascular and pulmonary effects of noradrenaline in the cold-acclimatized rat. *Fed. Proc.*, 22 : 911-916, 1963
- 8) Smith, R. E. and Roberts, J.C. : Thermogenesis of brown adipose tissue in cold-acclimated rat. *Am. J. Physiol.*, 206 : 143-148, 1964
- 9) Galbo, H., Holst, J.J., Christensen, N.J. : Glucagon and plasma catecholamine responses to graded and prolonged exercise in man. *J. Appl. Physiol.*, 38 : 70-76, 1975
- 10) Arnold, J., Leblance, J., Cote, J., Lalonde, J. and Richer, D. : Exercise suppression of thermoregulatory in warm and cold-acclimated rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 64 : 922-926, 1986
- 11) 櫻村修生, 中井誠一, 芳田哲也, 伊藤孝 : 種々のスポーツにおける基礎代謝. *日衛誌*, 42 : 809-814, 1987
- 12) Carlson, L.D. : Nonshivering thermogenesis and its endocrine control. *Fed. Proc. Suppl.*, 19 : 25-30, 1960
- 13) LeBlanc, J. and Villemaire, A. : Thyroxine and noradrenaline on noradrenaline sensitivity, cold resistance, and brown fat. *Am. J. Physiol.*, 218 : 1742-1745, 1970
- 14) Moriya, K. and Iton, S. : Effects of norepinephrine on uptake and oxidation of plasma free fatty acids. *Jap. J. Physiol.*, 27 : 601-616, 1977