

原 著

ラットの耐寒性におよぼすカテコールアミン投与,
褐色脂肪組織摘出, 剃毛および寒冷曝露の影響

柳 平 坦 徳

信州大学医学部順応医学研究施設順応生理部門
(主任: 上田五雨教授)

EFFECTS OF CATECHOLAMINE ADMINISTRATION,
REMOVAL OF BROWN FAT, HAIR SHEARING, AND
COLD EXPOSURE ON COLD RESISTANCE OF RATS

Yasunori YANAGIDAIRA

Department of Physiology, Institute of Adaptation Medicine,
Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. G. Ueda)

Summary

Effects of exposure to cold, removal of interscapular brown fat, shearing and administrations of norepinephrine (NE), bupranolol hydrochloride (BH), and reserpine (RE) on cold resistance in Wistar strain rats were studied. Evaluation of cold resistance was made by chilling rats to death in cold water at 5°C after due treatments for a month.

Onset and termination of shivering and survival time were recorded in minutes during the course of chilling rats to death. After killing rats, thickness of the skin was measured, and amounts of brown fat and hair were weighed.

The results were as follows:

1. The body weight and amounts of food and water intake were significantly less in the groups exposed to cold than those in the groups kept at 20°C, while amount of excreta was larger in the former groups than in the latter.
2. The total amount of interscapular brown fat was significantly larger in the treated groups than in the control group, but mg per body weight of brown fat was significantly larger only in the groups given NE and exposed to cold. The gain in brown fat in the groups exposed to cold was attributed to an increase in fat-free dry material.
3. The body length and thickness of the skin were significantly less in the group exposed to cold than in the control group. Total hair weight was only slightly heavier in cold exposure than in control, and hair weight per body weight was remarkably larger in the former group than in the latter because of significant loss in body weight in rats exposed to cold.
4. Shearing of hair hastened the onset of shivering and shortened survival time.

Removal of brown fat accelerated the fall in rectal temperature, but did not bring a significant reduction in the survival time.

The administration of NE and exposure to cold brought a slow fall in rectal temperature and

prolonged the onset of shivering and survival time.

The administration of RE and BH had no significant influences on changes in rectal temperature and on survival time.

5. It was concluded that body hair and interscapular brown fat were important tissues in protecting heat loss and thermogenesis. Since administration of NE to rats could help their acclimation to cold, it is suggested that NE may play an important role in obtaining an acclimation in rats exposed to cold.

Key words: カテコールアミン (catecholamine)
 剃毛 (shearing)
 耐寒性 (cold resistance)

I. 緒 言

生体が寒冷環境下に曝露される際、寒さに対する防御機構として、産熱および防熱の両機構の発達が考えられる。これらの機構の発達は、生体の耐寒性の増強につながることも予想されるが、現在、耐寒性をこれら両面から検討している報告は、ほとんどない。前報では、産熱組織の一つとして、褐色脂肪組織 (BAT) をとりあげ、耐寒性と関連性について検討した¹⁾。本報では、産熱機構に重要な役割を果たすと考えられているカテコールアミン (CA) の内、特にノルエピネフリン (NE) の存在が生体の BAT または耐寒性にどんな影響を与えるか、また寒冷耐性実験時にみられる、ふるえが耐寒性とどんな相関をもつかについて検討した。また防熱組織と考えられる体毛について、その剃毛が耐寒性にどの程度関与するかについても検討したので、これらの実験結果について報告する。

II. 材料および方法

実験用動物には 150g 前後の Wistar 系ラット (雄) 45匹を用い、実験群は、1…対照群、2…肩甲骨間BAT摘出恒温群、3…剃毛恒温群、4…NE 投与群、5…レセルピン (RE) 投与群、6…塩酸ブプロロール (BH) 投与群、7…寒冷曝露群、8…肩甲骨間 BAT 摘出寒冷群、9…剃毛寒冷群の 9 群に分けた。薬剤投与量は、NE 200 μ g/kg、RE 0.5mg/kg および BH 10 μ g/kg とし、それぞれ Ringer-Locke 液に溶解し、その 0.2 cc を各動物の腹腔内に投与した。NE、BH は飼育期間中、毎日 1 回、また RE は始めの 3 週間を無処置で飼育した動物に対し、飼育終了 1 週間前より終了日までの 7 日間、毎日 1 回投与した。なお RE は神経組織終末端部の NE 摂取阻止、BH は生体組織内の交感神

経 β 受容体遮断効果を期待して使用した。NE (L-noradrenaline bitartrate) は和光純薬、RE (triserpin) は鳥居薬品、BH (Looser) は科研化学の市販品である。1~6 群の動物は 20 \pm 2 $^{\circ}$ C の恒温室、7~9 群の動物は 5 \pm 1 $^{\circ}$ C の低温室において、それぞれ 1 ヶ月間飼育した。2、8 群以外の動物には飼育開始 1 週間前に肩甲骨間部に偽手術を施した。剃毛群における剃毛は飼育開始 5 日前、飼育開始後 15 日目、および飼育終了日の計 3 回に分けておこなった。剃毛部は動物の背部中央部と定め、剃毛表面積の個体差を除去するため、最初に動物の体重を測定し、体重の 3 乗根を求め、この値を一辺とする正方形部分の表面積を毛切りバサミで、できるだけ短く、かつ一様に刈り取った。飼育期間 1 ヶ月間、各群の動物の体重、食物および水分摂取量、排泄量の測定も毎日おこなった。

飼育終了後、各個体の寒冷耐性測定のため凍死実験装置を用いて²⁾、直腸温、心拍数の測定をおこない、前者における下降曲線、後者における致死時間等についての検討をおこなった。動物の直腸温の測定には熱電対表面温度計 (安立計器 HP-4F) を用い、そのピックアップ (特注) を肛門部より約 5cm 挿入して測定した。また心拍数の測定には、前頭骨部、背部正中線上の中央部、後肢大腿骨部の 3ヶ所に電極をとりつけ、心電計 (日本光電 MC-2 TR) に接続して測定した。動物が固定され、安静になり、直腸温、心拍数がほぼ一定の値を保つのを確かめて、5 $^{\circ}$ C に保った冷水中に前肢部まで浸水させ、直腸温、心拍数の同時測定をおこなった。浸水の最長時間は 2 時間と定め、動物の死亡時間の判定には、呼吸停止後、心拍数の停止が 1 分以上続いた場合を仮に死亡と定めた。この実験中には、動物のふるえが伴ない、その筋電図が心電計に記録されるので、ふるえの出現時間とその終了時間の

二項目についても測定し、各群間で比較した。

凍死実験終了後、体重、BAT重量、体毛の重さ、皮膚の厚さについて測定をおこなった。BATに関しては重量測定後クロロホルム、メタノール(2:1 v/v)で脂質を抽出し、組織における脂質量、水分量、残渣量を求めて、それらのパーセントを算出した。また防熱組織と考えられる動物の体毛と皮膚の厚さに関しては対照群と寒冷曝露群のみを対象とし、体毛の重さは、各動物の体表面全部を完全に刈り取ってその重量を測定し、また皮膚の厚さは剃毛後の背部中央部を切り開き、その皮膚の厚さをノギスで計測した。

Ⅲ. 成績

A. 飼育期間中の体重、食物および水分摂取量、排泄量

飼育期間における体重の変化は Fig 1. に示される如く、恒温飼育群(20°C)と低温飼育群(5°C)に大きく二分される。すなわち前者の成長が順調な増加成長を示すのに対し、後者は4日目まで急激な体重の減少がみられ、それ以後もほとんど体重増加はみられていない。なお薬剤投与群(4, 5, 6)は図示されていないが、対照(control)群と剃毛恒温(shearing of hair)群の中間に位置する。

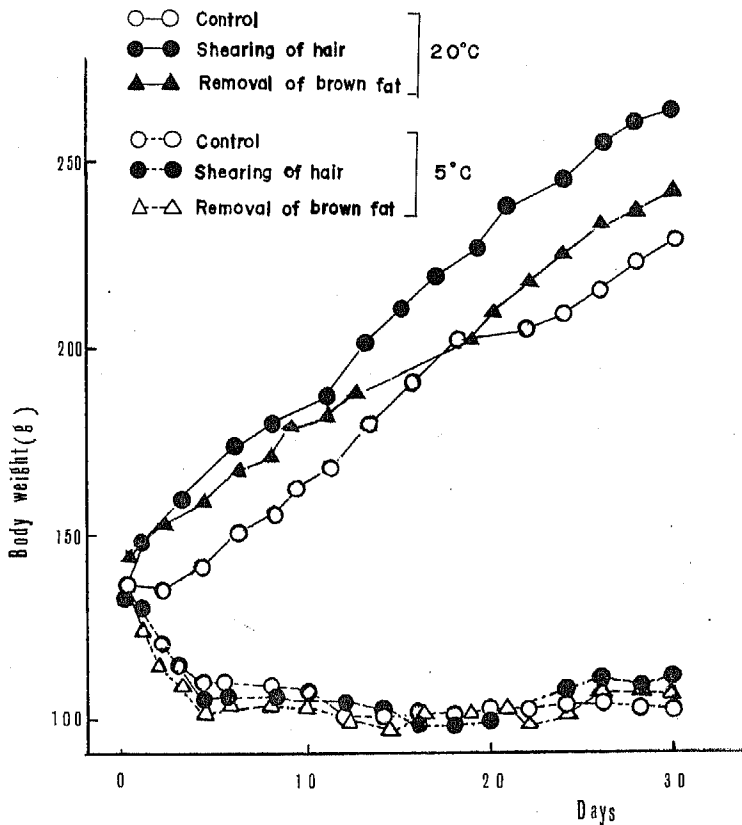


Fig 1. Changes in body weight of rats under various conditions. Average weight of each group is plotted on ordinate, versus days of breeding on abscissa.

Solid lines indicate the values of body weight of the rats which were placed at a room temperature of 20°C, and dotted lines indicate the values of body weight of the rats which were placed at a room temperature of 5°C.

食物摂取量については Fig 2. に示した。体重と同様、恒温飼育群と低温飼育群の値は大きく二分され

る。しかし体重の変化と異なる点は低温飼育群では4日目以後、食物摂取量の増加が認められる点である。

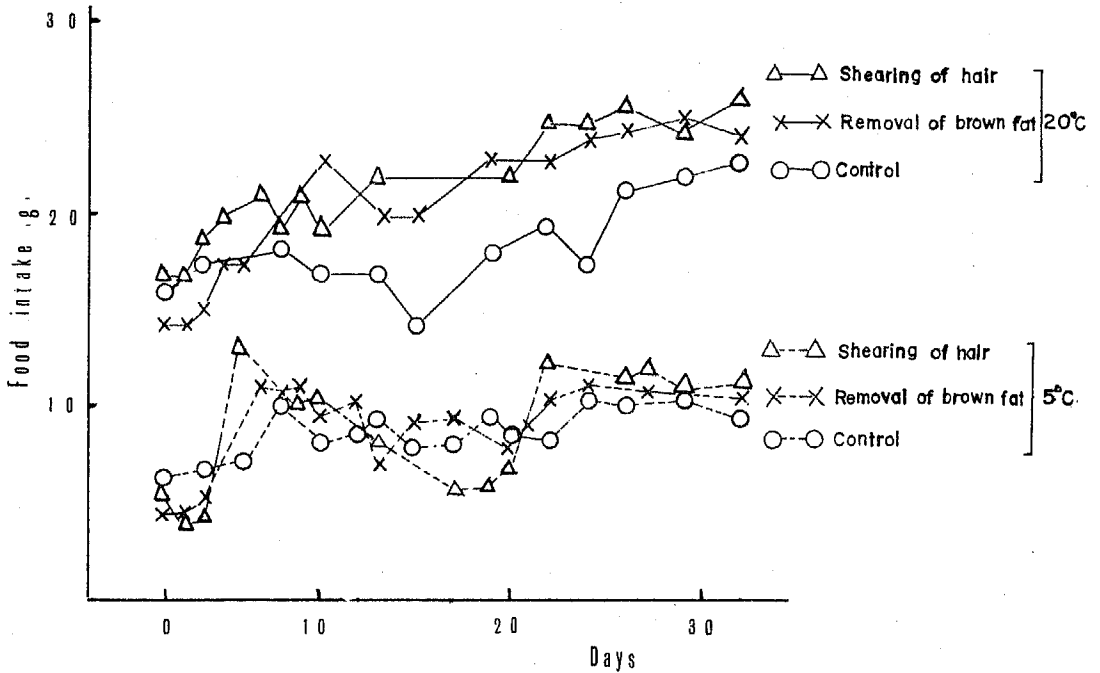


Fig 2. Changes in food intake by rats under various conditions.

Average intake of each group is plotted on ordinate, versus days of breeding on abscissa. Solid lines indicate the amount of food intake by the rats which were placed at a room temperature of 20°C, and dotted lines indicate the amount of food intake by the rats which were placed at a room temperature of 5°C.

Table 1. Effects of previous treatments on body weight, food and water intakes and amount of excreta.

Groups		Body wt	Food intake	Water intake	Urine and feces
ambient temperature (20°C)					
1 Control	(5)	229.0±16.1	18.3±0.5	27.3±1.0	11.8±0.9
2 Shearing of hair	(5)	272.0±13.0	20.8±1.2	29.0±1.0	14.5±0.8
3 Removal of brown fat	(5)	251.8± 8.0	18.8±0.9	26.4±1.0	11.6±0.9
4 NE injection	(5)	259.2±10.8	20.0±0.8	28.4±0.9	11.5±1.0
5 RE injection	(5)	236.6±15.8			
6 BH injection	(5)	246.0± 3.9	20.9±0.7	30.6±1.9	11.8±1.6
ambient temperature (5°C)					
7 Control	(5)	104.2± 6.0*	8.6±0.6*	17.3±1.0*	18.4±1.9*
8 Shearing of hair	(5)	125.6± 3.4*	9.3±0.6*	17.6±1.5*	16.2±1.6*
9 Removal of brown fat	(5)	107.5± 4.2*	8.6±0.5*	16.6±0.9*	15.2±1.4

The values are means ± S. E. M.

* Significantly differ from those of the control group, respectively, at a level less than 5%.

Parentheses : No. of rats.

飼育期間中における1日1匹あたりの平均摂取量は Table 1. に示してあるが、恒温飼育群では20g 前後、低温飼育群では9g 前後の値となっている。

水分摂取量を同様に比較してみると前者では28ml 前後、後者では17ml 前後の値を示している。

排泄量(糞量+尿量)については、体重、食物および水分摂取量の場合とは逆に、低温飼育群の方が増加している (Table 1.)。

B. 褐色脂肪組織重量およびその構成成分

各群における肩甲骨間 BAT 重量については Fig 3., Table 2. に示した。Fig 3. a) は BAT 組織重量の絶対値をあらわしたものであるが、対照群と比較して各群ともいずれも対照群を上回っている。特に NE 投与群、剃毛寒冷群、BH 投与群、寒冷曝露群の順序となりこれら4群は有意な増加を示している。Fig 3. b) は体重あたりに対する肩甲骨間 BAT 重量の値を比較したものである。この図においても対照群と比較してすべての群でその値が対照群を上回っている。特に寒冷曝露群の2群の値が著しく高くなっているのが特徴的である。なお恒温飼育群の中ではNE 投与群のみが有意な増加となっている。

BAT 組織の構成成分に関しては低温飼育群の2群において脂質量の割合(%), 残渣量に関して対照群との間に有意差がみられる。すなわち、低温飼育により、前者では減少、後者では増加の傾向が認められる (Table 2.)。

しかし恒温飼育群の5群とも同飼育群の対照群との間に差は認められない。

C. 体毛重量と皮膚の厚さ

Table 3. は体毛の重さと皮膚の厚さを対照群と寒冷曝露群の2群について比較したものである。全体毛重量においては、絶対値の平均値では対照群 2208 mg, 寒冷曝露群 2456mg となり、寒冷曝露群が11% だけ対照群を上回っている。また体重あたりの体毛重量の値では、前者が9.66, 後者が23.69 という値を示し、寒冷群で約2.5 倍の増加となる。しかし皮膚の厚さでは、絶対値の平均値で対照群9.67mm, 寒冷曝露群7.0mm となり、寒冷曝露群は逆に38%の減少を示し有意差となる。また体長に対する皮膚の厚さで比較すると両群ともに0.044 という同値を示した。

D. 凍死実験中におけるふるえ、直腸温、致死時間

5°C の冷水中に浸水された動物は急激な直腸温の低下、心拍数の減少を示し、さらに10分前後より激しい

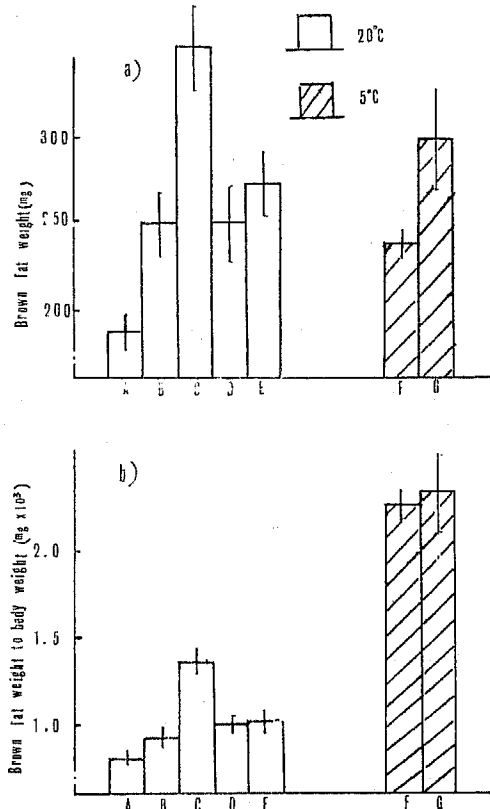


Fig 3. Total amount of interscapular brown fat (a) and relative weight of interscapular brown fat to body weight (b). A-E: ambient temperature (20±1°C) A: control B: sheared C: injection of norepinephrine D: injection of reserpine E: injection of bupranolol hydrochloride F-G: ambient temperature (5±1°C) F: control G: sheared Bars and vertical brackets indicate mean ± SEM.

ふるえを起し始める。このふるえは心電計を経て心電図に混入し、筋電図として記録される (Fig 4.)。これらのふるえについて、その出現時間と終了時間に分けて測定し、それらの値を各群間で比較した (Table 4.)。ふるえの出現時間の最も早い群は剃毛恒温群で

Table 2. Amount and composition of interscapular brown fat.

		Interscapular brown fat		Interscapular brown fat composition		
		(mg)	(mg/g-body wt)	Lipid (%)	H ₂ O (%)	Fat-free dry material (%)
ambient temperature (20°C)						
1	Control (5)	188.2±10.0	0.83±0.02	30.3±3.0	51.8±1.8	17.9±3.1
2	Shearing of hair (5)	254.4±18.4*	0.94±0.05	24.7±2.7	52.3±1.2	20.9±1.5
4	NE injection (5)	308.6±25.6*	1.38±0.06*	29.3±1.3	51.5±1.5	19.2±1.5
5	RE injection (5)	247.0±22.9*	1.04±0.04	27.5±2.3	54.0±1.5	23.7±1.5
6	BH injection (5)	276.0±17.7*	1.08±0.06	25.1±2.1	55.1±1.2	19.8±1.8
ambient temperature (5°C)						
7	Control (5)	243.2±7.3*	2.34±0.07*	17.2±1.6*	50.7±1.2	32.1±2.3*
8	Shearing of hair (5)	297.6±29.6*	2.36±0.22*	14.5±1.7*	50.5±1.6	34.9±1.8*

Values as in Table 1.

Table 3. Skin thickness and hair weight in control and cold-acclimated rats.

Group no.	Body wt (g)	Body length (mm)	Hair wt (mg)	h. w. (mg)	Skin thickness (mm)	s. t. (mm)
				b. w. (g)		b. l. (mm)
Control (20°C)						
1	229.0±16.1	212.2±5.2	2208.0±144.0	9.66±0.18	9.67±1.22	0.044±0.005
exposed to cold (5°C)						
7	104.2±6.0*	157.8±6.06*	2456.0±89.10	23.69±0.6*	7.0±0.39*	0.044±0.002

Values as in Table 1.

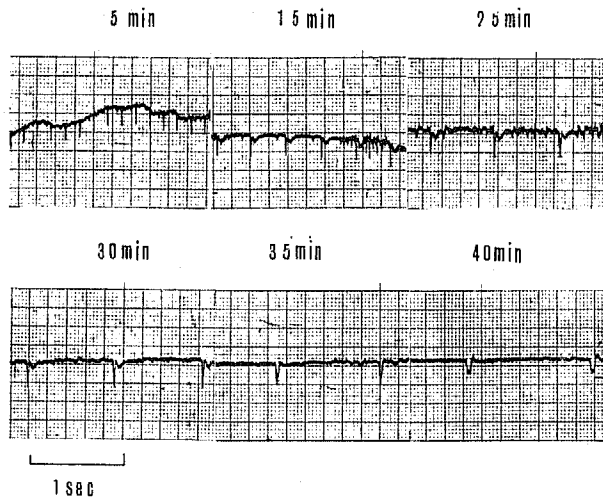


Fig 4. Shivering during immersion in cold water at 5°C was detected as noise patterns in ECG of the rats. The onset time of the shivering appeared at fifteen minutes and the termination of the shivering appeared at thirty minutes from the start of immersion.

Table 4. Shivering parameters of rats during chilling to death in water at 5°C.

Groups		Process of shivering		Survival time (min)	
		Onset time (min)	End of shivering (min)		
ambient temperature (20°C)					
1	Control	(5)	17.0±1.22	39.0±1.81	68.0±3.74
2	Shearing of hair	(5)	9.4±0.40	28.8±1.24*	51.0±1.84*
3	Removal of brown fat	(5)	17.0±1.22	36.6±2.13	59.4±4.22
4	NE injection	(5)	25.0±2.23*	47.0±4.63	92.0±3.67*
5	RE injection	(5)	16.0±1.87	38.6±2.82	59.0±5.57
6	BH injection	(5)	25.0±2.58*	44.3±4.15	61.0±6.40
ambient temperature (5°C)					
7	Control	(5)	40.0±2.23*	68.0±2.56*	103.0±5.83*
8	Shearing of hair	(5)	10.4±0.75*	33.0±1.22*	62.0±3.00
9	Removal of brown fat	(5)	19.0±1.87	33.0±2.00	63.0±3.74

Values as in Table 1.

9.4分、次いで剃毛寒冷曝露群の10.4分となる。逆に最も遅い群は寒冷曝露群の40.0分、次いで恒温飼育群のNE投与群、BH投与群がともに25.0分で続く。これらの5群は対照群の値17.0とは有意差となる。

ふるえの終了時間においては、終了時間の最も長い群は寒冷曝露群で、その値は68.0分を示す。次いでNE投与群の47.0分がこれに続く。逆に最も短い群は剃毛恒温群の28.8分、剃毛寒冷群、肩甲骨BAT摘出寒冷群の両群が33.0分となり、いずれも対照群の値39.0分より減少している。

Fig 5. の a)~d) は 5°C の冷水中に60分間浸水された4群の動物の平均直腸温度の下降を対照群のそれと比較したものである。この図から示される如く、a) NE投与群、b) 寒冷曝露群の両群において、直腸温の下降曲線は対照群と比較して10分前後から常にその上方に位置していることがわかる。逆に c) 肩甲骨間BAT摘出寒冷群、d) 肩甲骨間BAT摘出恒温群の両群では20分前後より直腸温の下降曲線は対照群の下方に位置することが示されている。しかしこれらの変化は有意差にまでは至らなかった。なお、BHおよびRE投与群、剃毛両群は図示されていないが、対照群との間には、ほとんど差は認められなかった。

各群間における平均致死時間は寒冷曝露群の103.0分を最高にNE投与群92分、対照群68分と続く(Table 4.)。最も致死時間の短い群は剃毛恒温群の51分で、対照群との差は有意となった。しかし剃毛寒冷群62.0分、肩甲骨間BAT摘出恒温群59.4分、肩甲骨間BAT

摘出寒冷群63.0分、RE投与群59.0分、BH投与群61.0分という値を示し、いずれも対照群より致死時間の平均値は少ないが、有意差は示さなかった。

致死時間とふるえの関係は Table 5. に相関係数であらわした。ふるえの出現時間に関しては、各群においてかなり高い相関係数を示すが有意差は示さない。しかし恒温飼育の6群、寒冷飼育の3群および計9群でその値をみると、それぞれ $r=0.76, 0.95, 0.87$ という高い値を示し1%危険率で有意の相関となった。さらにふるえの終了時間も $r=0.89, 0.83, 0.80$ となり、1%危険率で有意の相関を示している。

IV. 考 察

A. BAT 摘出と耐寒性との関係

ラットのBAT重量と寒冷耐性には正の相関が認められ、BAT摘出により寒冷耐性指数は減少するが、本実験でも直腸温の低下(Fig 5.)、致死時間の短縮傾向が認められた。しかしこれらの値は対照群と有意差が示されるまでに至っていない。

BAT摘出群は恒温飼育群と寒冷飼育群の2群について耐寒性の変化を比較したが、両群の直腸温、致死時間にはあまり差は認められていない。この事実は寒冷曝露群(無処置)で著しい致死時間の延長が認められているのに対して、BAT摘出により動物が耐寒性を増強できなくなることを示唆している。

BATは冬眠動物を主とする産熱組織として知られているが²⁾⁻⁴⁾、現在ではラット⁵⁾⁻⁸⁾、ウサギ⁹⁾⁻¹¹⁾、

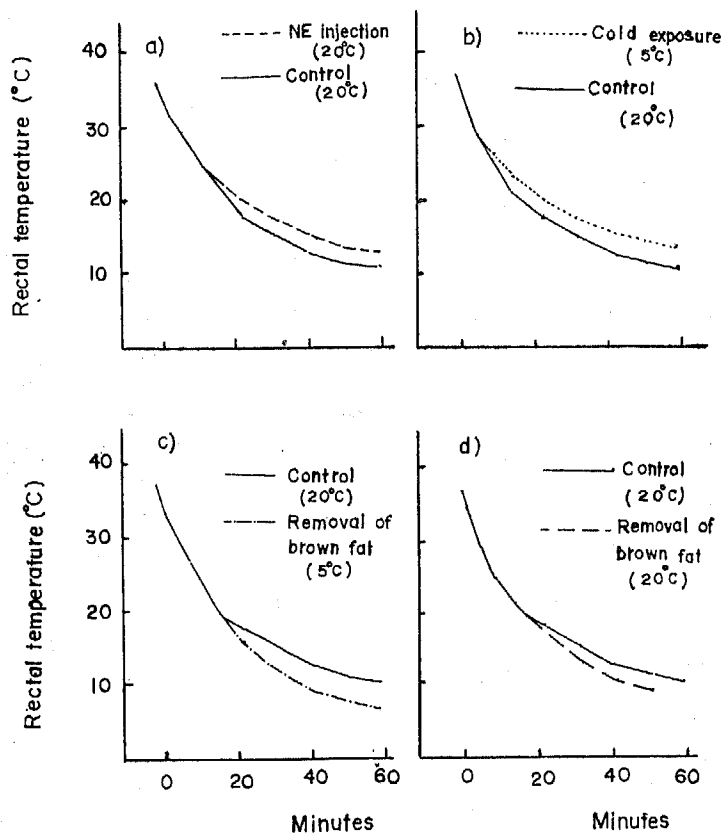


Fig 5. Successive changes in rectal temperatures during the course of chilling in water at 5°C.

など実験用動物においてもきわめて高い産熱組織であることが明らかにされてきた。産熱機構に重要な役割を果たすとみられている NE に対する感受性と BAT の関係からみてみると、新生ウサギに NE を投与したところ、酸素消費量が著しく増加し、BAT の組織温度が急速に上昇したという¹⁰⁾。また BAT を摘出すると NE 投与による酸素消費量の増加が著しく減少した¹¹⁾。さらにラットの体温変化をみる目的で BAT を摘出した実験では、NE 投与による産熱効果は減少している¹²⁾。また BAT の組織温は寒冷曝露ラットでは寒冷時に、その組織温が 0.6~2.0°C 上昇している¹³⁾。このような報告は BAT 自身かなりの熱産能力をもっていることを示唆するものであり、特に小動物における BAT の存在意義はかなり大きいものと考えられる。

B. 刺毛動物と耐寒性との関係

動物の体表面をおおう体毛は、その動物の保護組織

であるとともに寒冷に対する防熱組織でもあろう。事実、寒冷耐性実験において恒温飼育と寒冷飼育の刺毛群では致死時間が対照群より短縮しており、特に刺毛恒温群は有意な減少を示している。刺毛動物に関連してその他の生理的な変化をみると、恒温飼育群では体重の増加 (Fig 1.)、食物摂取量の増加 (Fig 2., Table 1.)、水分摂取量の増加 (Table 1.) などが見られ、寒冷飼育群では BAT 重量の増加 (Fig 3., Table 2.) が著しい。これらの現象は、刺毛により代謝の亢進が増加することを示唆している。寒冷耐性実験中のふるえの出現時間では、各群間で最も早くふるえがあらわれるのが特徴的である (Table 4.)。Davis と Mayer¹⁴⁾の実験によると、刺毛ラットを 5°C の室温に曝露させたところ、ふるえの強さは対照群より増加し、ふるえの出現時間は対照群より約 20 分も早く起り、また直腸温の減少は軽度にとどまった。対照ラットを 5°C に曝露させると、ふるえの出現によって体

ラットの耐寒性

Table 5. Relationship between survival time and shivering.

Control groups		Onset time	End of shivering
1 Control	(5)	0.87* (NS)	0.80 (NS)
2 Shearing of hair	(5)	0.83 (NS)	0.98 (P<0.05)
3 Removal of brown fat	(5)	0.80 (NS)	0.79 (NS)
4 NE injection	(5)	0.43 (NS)	0.91 (NS)
5 RE injection	(5)	0.71 (NS)	0.89 (NS)
6 BH injection	(5)	0.79 (NS)	0.96 (P<0.05)
Control total	(30)	0.76 (P<0.01)	0.92 (P<0.01)
Cold groups			
7 Control	(5)	0.93 (NS)	0.83 (NS)
8 Shearing of hair	(5)	0.76 (NS)	0.78 (NS)
9 Removal of brown fat	(5)	0.54 (NS)	0.84 (NS)
Cold total	(15)	0.96 (P<0.01)	0.80 (P<0.01)
Total	(45)	0.87 (P<0.01)	0.79 (P<0.01)

* Correlation coefficient.

NS: not significant.

Parentheses: No. of rats

温のわずかな上昇もみられた。このように急性に寒冷に曝露された動物は、剃毛によりふるえの出現時間が著しく早期に出現し、またふるえの強さも増加するものと考えられる。剃毛群における直腸温の下降曲線は、対照群との間にほとんど差はなく、一時的に対照群を上回る値を示している。この時間帯はふるえ出現よりふるえが持続している範囲であり、ふるえによる産熱は対照群を上回ることが想定される。しかし5°Cの水中では致死時間を延長させることができず、防熱効果としての体毛の重要性が、改めて今回の実験によって強調された。すなわち、前述したような食物などの栄養素の熱源の増加、BAT重量の増加、代謝の亢進などで寒冷曝露による寒冷馴化がある程度できたとしても、体毛による防熱機構を除去すれば、動物の耐寒性は著しく減弱してしまうことが明らかにされた。

C. 各種ホルモンと耐寒性との関係

ホルモンのうち、CAにおけるNE、エピネフィリン(E)が動物の産熱効果に重要な働きを示すことを明らかにしたのはHsiehとCarlson¹⁵⁾、Hsieh¹⁶⁾らの実験である。彼らは、ラットにE、NEを投与すると酸素消費量の増加が認められ、特に寒冷馴化動物でその傾向が著しいことを報告している。また交感神経遮断剤のhexamethoniumをラットに投与すると、逆に著しい酸素消費量の減少が認められた。これらの

CAの働きを耐寒性にまで結びつけて考えたのがLeBlancらの一連の実験¹⁷⁾⁻²¹⁾である。ラットにNEを少量ずつ連日1ヶ月以上投与すると、室温に飼育したラットでも酸素消費量が増加し、直腸温の上昇も大であり、さらに耐寒性も高まることがわかった¹⁷⁾。また、LeBlancとVillemare¹⁸⁾は上記の知見を確認するとともに、β-作働薬イソプロテノールをラットに投与したところ、やはり酸素消費量は著明に増加した²¹⁾。HsiehとWang²²⁾はラットの心臓に連日NEを投与し、直腸温の上昇と酸素消費量の増加を認め、さらにNE投与ラットではクラーレ処理をして寒冷に曝露させても、明らかに酸素消費量が増加することを認めた。一方、ウサギを用いた実験でNagasaka²³⁾はNEの連続投与により、寒冷曝露動物では産熱効果が高揚し、ふるえの程度が減少し、さらに直腸温の下降は対照群より少なくなることを報告している。マウスでは¹⁹⁾、間歇的な寒冷曝露により耐寒性の増加が認められたが、NE投与による効果は認められなかった。またラットにREを投与すると、酸素消費量の減少、直腸温の低下が認められ、耐寒性も減少すると述べている²⁰⁾。以上の如き実験結果からCAの効果、特にNEの存在は動物の産熱効果に重要な役割を果していることが示唆されよう。そこで今回の実験では、特に動物の生体内におけるNEの存在を増減させて、その耐寒性の変化を検討してみた。その結果、NEの連続

投与により BAT 重量の増加、寒冷耐性実験により直腸温の下降が対照群より少ないこと、および致死時間の延長が認められたことなどが追証された。しかし RE 投与によって直腸温の変化は対照群と変わらず、致死時間でも平均値で9分対照群より減少しているが有意差を示すに至っていない。また BH 投与群もほぼ同様な結果を示している。すなわち、NE の連続投与により直腸温は対照群よりその下降が少なく、耐寒性も増強するが、RE および BH 投与によって、逆に耐寒性を減少させるという結果を推計学的に証明することはできなかった。前記の文献と異なるのは動物の年齢、投与量などである。特に RE 投与量では、本実験においては寒冷耐性実験前1週間0.5mg/kg 連日投与という方法をとっているのに対し、LeBlanc²⁰⁾の実験では耐寒実験開始前に5mg/kg の RE 投与をおこなっている。ラットに5mg/kg の RE 投与をおこなうと、激しい下痢、閉眼、筋の緊張低下、体温の減少などがおこり²⁴⁾、その副作用が大であることが指摘されている。1回の大量投与では副作用の影響が大きく、少量の連続投与では完全な NE 阻止をおこなわない可能性が考えられる。長期間 RE を少量投与すると顆粒内貯蔵の NE は減少するが NE の少量部分が残る、これが神経伝達をおこなうので交感神経機能は維持される²⁵⁾という報告もある。また、交感神経除去ラットで尿中の NE、E を測定したところ、恒温飼育動物では無処置動物より値が減少したが、寒冷曝露動物では逆に増加しており²⁶⁾、これらの結果からやはり交感神経機能が完全に消失していないのではないかという推定がなされている。いずれにせよ、RE 投与や交感神経除去という方法によって耐寒性の推定をする際には、副作用の抑制、機能の完全停止を同時に行なわなければならない。今後さらにその方法の改良について検討されなければならない。

NE 以外のホルモン、例えば副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)、甲状腺刺激ホルモン (TSH)、甲状腺ホルモンなども脂肪分解に関与し、FFA の放出を促すと考えられている。

Hahn ら (1969)²⁶⁾、Skala と Hahn (1971)²⁷⁾の実験によると幼体ラットを用いてコーチゾンを投与したところ、BAT 量の増加、その脂質含量の増加、蛋白含量の減少などが認められた。また副腎摘出ラットでは BAT 脂質含量の減少²⁸⁾、脂肪細胞の大きさの減少²⁹⁾などがみられるが、コーチゾンを投与すると BAT が肥大するという²⁸⁾。一方、脂肪分解作用とし

て ACTH の働きを *in vitro* の実験で調べてみると、マウスの BAT では、ACTH は FFA 放出に関与していないという報告があり³⁰⁾、またおこすとしても大量の ACTH が必要であるという³¹⁾。これらの結果からして BAT に対しての効果はあまり期待できないが、白色脂肪組織の脂肪分解に関与しているというから³⁰⁾、これから充分検討される余地がある。

TSH に関して、脂肪組織の分解が促進されるというから³²⁾、脂肪分解による FFA の放出作用は充分考えられる。しかし BAT および耐寒性にどの程度影響をおよぼすかは明らかではない。

甲状腺ホルモンもまた非ふるえ産熱の発現に重要な役割を果たすといわれている³³⁾。このホルモンは特に BAT との関係も深く、甲状腺末を与えられたラットの BAT 量は著しく増加し³⁴⁾、またサイロキシン (T_4) 投与によっても、BAT 量は有意に増加し、その増加量は NE 投与群より大であり、しかも耐寒性が増強され、 T_4 +NE により更に BAT 量、耐寒性が増強された³⁵⁾。また寒冷曝露により、甲状腺の T_4 分泌速度が増加し³⁶⁾、血中における血漿蛋白結合ヨード (PB³⁷⁾) も増加する³⁵⁾しかし血中では、寒冷初期にその値が増加するだけで、その後は元の値に戻るか、減少する³⁸⁾のがふつうである。また Hsieh と Carlson (1957)³⁷⁾の実験では、寒冷馴化ラットでは甲状腺を摘出して、高い酸素消費量を維持しているというから、甲状腺ホルモンが直接、動物の産熱又は耐寒性に関与しているという証明は得られない。いずれにしても、NE のみならずこれらの各種ホルモンが何らかの形で、BAT、耐寒性などに関与していることは充分想定されよう。

D. 寒冷曝露動物と耐寒性との関係

動物が寒冷環境下で飼育されると、最初にみられる最も著しい変化は、体重の減少³⁸⁾⁻⁴²⁾、食物摂取量の減少³⁸⁾であり、これらの現象は約1週間続き、それ以後は体重、食物摂取量ともやゝ増加の徴候を示してくる。寒冷曝露初期にみられる体重減少の要因は、食物および水分摂取量の減少、体脂肪の減少⁴³⁾ならびに排泄量の増加 (Table 1.) などが考えられる。寒冷環境に飼育させられている動物にとっては、かなりの悪条件下で生存をしいられているものと思われる。しかし、致死時間は寒冷曝露群が各群間で最も高い値を示し、寒冷に対する耐性を獲得していることがわかる。この耐性獲得が何によってもたらされるかという事が重要な点となろう。今回の実験では対照群より致死時

間が延長した群は、寒冷曝露群の他はNE投与群だけであり、剃毛寒冷群、BAT摘出寒冷群などいずれも対照群の値より致死時間は短縮している (Table 4.)。この結果から、まずNEの生体におよぼす産熱効果と寒冷曝露とがどのような関係にあるかについて考えてみたい。寒冷曝露により交感神経末梢より放出されるNEの働きは脂肪組織に作用し、FFAの動員を促し、血中FFAを増加させるか、または回転速度を早め⁴⁴⁾、FFAがエネルギー源として作動することが考えられる。逆にNE投与によりBAT量²⁸⁾、酸素消費量¹⁵⁾¹⁶⁾、FFA⁴²⁾、血流量⁴⁵⁾などの増加がおこる。これらの変化は寒冷曝露動物が示す変化と類似しており、間接的に寒冷順応現象との結びつきを暗示している。

次に寒冷曝露によるBAT重量の増加⁴⁶⁾~⁴⁸⁾と寒冷耐性との関係について考察してみたい。前述したように、BAT重量と寒冷耐性との間には正の相関が認められ、この現象は肩甲骨間BAT摘出により耐寒性が減少することからも示される⁷⁾。すなわち何らかの方法でBAT重量を増加させれば、耐寒性が増強する可能性があるという見方もできる。しかしBATそのものを移植させても、BAT自身がほとんど吸収されてしまいBAT重量増加に役立たず、また耐寒性の増強にも関与しなかった⁷⁾。この事より、BAT自身が耐寒性そのものに有効かどうかの証明は得られなかったが、BAT重量の多い個体は耐寒性が高いということはいえそうである⁷⁾。このようなBAT重量の増加と耐寒性の増強という正の相関はNE、T⁴投与などによってもみられることより、BAT重量の変化は、その動物の耐寒性を検討する際の一つの指標となり得るだろう。更に寒冷曝露、又はNE、T⁴投与などによりBAT重量の増加、そして耐寒性増強という一連の関係も想定されてくる。本実験では、剃毛寒冷群のBAT重量も著しく増加しているが、耐寒性は減少しており、この場合は防熱機構の損失が著しいためと解釈される。BAT以外に考えられる非ふるえ産熱として、例えば組織量の多い骨格筋が有力な産熱部位であるという研究者⁴⁹⁾もあり、しかもこの産熱にNEが関与しているとのべている。しかし動物の産熱量でみると、非ふるえ産熱はふるえ産熱に遠くおよばないという⁵⁰⁾こともできる。寒冷曝露により、ほとんど全ての動物はふるえをおこすが、軽度の寒冷では寒冷馴化動物はふるえを示さず、示したとしても、その度合は対照動物より少ない⁵¹⁾。またふるえの出現時間も遅くなる⁵²⁾との報告がみられるが、この点では、本実験で筆

者の求めた結果と一致するものである。各個体ごとのふるえ出現時間と致死時間との間の相関係数をとってみると、 $r=0.87$ という値を示し、1%以下の水準で有意となった (Table 5.)。これはふるえの出現時間が遅い個体ほど耐寒性が強いことを意味しており、耐寒性をあらわす指標として有力なものと考えられる。また、ふるえの出現時間の平均値では、寒冷曝露群は対照群の値の2倍強その値が延長しており、両者間には有意差が認められている (Table 4.)。この結果から、ふるえ出現までの過程において、寒冷曝露動物は他の非ふるえ産熱の発達、または防熱組織の発達が対照動物よりすぐれているのではないかと考えられた。

最後に防熱組織として考えられている体毛と皮膚の厚さについて検討してみたい。Table 3. は寒冷曝露群と対照群について、それらを比較したものであるが、その結果は、寒冷曝露により絶対値では、全体毛重量においては、わずかに増加し、皮膚の厚さに関しては減少していることが示される。しかし相対的な見方から、これらを体重、体長で比較してみると、体毛重量では増加、皮膚の厚さでは変化なしという結果となっている。他の文献でみてみると、体毛に関しては、野生動物のApodemus属のネズミは冬毛が長く⁵³⁾、その密度が高い⁵⁴⁾というし、寒冷曝露によりラットでは体毛重量が増加するなどの報告があり³⁹⁾、寒さによって動物の体毛は増加するものと推定される。筆者の実験では体毛に幾分増加傾向がみられたが、皮膚の厚さでは逆に減少がみられたため、動物の冷却に対する熱防御が体毛および皮膚にどの程度依存するかを究明することが今後の研究課題でもある。

まとめ

ラットの耐寒性が寒冷曝露、CA、BAT、剃毛などどのような関係にあるかを明らかにする目的で、動物に寒冷曝露、BAT摘出、NE投与、CA遮断剤投与、剃毛などの設定条件を与え、5°Cの冷水中に動物を浸水させて、直腸温の変化、ふるえの分析、致死時間などについて対照動物と比較検討した。

1. 肩甲骨間BAT摘出恒温群では、対照群と比較して直腸温の低下、致死時間の短縮傾向が認められた。肩甲骨間BAT摘出寒冷群もほぼ類似の傾向を示す。
2. 剃毛恒温群は各群間で最も致死時間が短縮し、その値は対照群と比較して有意な減少となった。ま

た、ふるえの出現時間も各群間で最も早期にみられた。

剃毛寒冷群も剃毛恒温群とよく似た傾向であるが、幾分、致死時間、ふるえの出現時間が延長している。BAT重量は剃毛寒冷群で著しく増加し、対照群と比較して有意の増加を示した。

3. NE投与群は直腸温の下降が対照群より少なく、致死時間も延長している。また、BAT重量の絶対値は各群間で最大値となっている。RE投与群では直腸温には対照群との間に差はみられず、BAT重量も幾分増加傾向を示す。致死時間では平均約9分減少したが、有意差にはならなかった。BH投与群もほぼRE投与群と同様な結果を示す。

4. 寒冷曝露群では直腸温の下降が最も少なく、致死時間も最大値を示した。またBAT重量も対照群を有意に上回る。ふるえの出現時間、終了時間も各群間で最も遅く、長い。

体毛の重さを対照群と比較してみると、絶対値でわずかに増加し、体重あたりの値では約2.5倍の増加となる。しかし皮膚の厚さは絶対値で減少し、体長に対する値では対照群との間に差は認められなかった。

5. 致死時間とふるえの出現時間、終了時間との間には、かなり高い相関関係が認められた。

6. ラットの寒冷耐性が、何によってどのように獲得されるかについて、BAT、各種のホルモン、体毛および寒冷曝露などを指標として、耐寒性ととの関係について検討し、考察を加えた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲をたまわった恩師上田五雨教授に深い感謝の意を表すると共に、日頃御教示いただいている信州大学医学部本山十三雄助教授、愛知学院大学歯学部宮尾嶽雄教授に感謝いたします。

本論文の要旨は昭和52年4月、第54回日本生理学会において発表した。

文 献

- 1) 柳平坦徳：ラットの褐色脂肪組織重量と耐寒性について。信州医誌，22：143-149，1974
- 2) Smith, R. E. : Thermoregulatory and adaptive behavior of brown adipose tissue. Science, 146 : 1686-1689, 1964
- 3) Smally, R. L. and Dryer, R. L. : Brown fat : Thermogenic effect during arousal from hibernation in the bat. Science, 140 : 1333-1334, 1963
- 4) Smith, R. E. : Thermoregulation by brown adipose tissue in cold. Feder. Pro., 21 : 221, 1962
- 5) Smith, R. E. and Hock, R. J. : Brown fat : Thermogenic effector of arousal in hibernators. Science, 140 : 199-200, 1963
- 6) Donhoffer, S. Z., Sardy, F. and Szegvari, G. Y. : Brown adipose tissue and thermoregulatory heat production in the rat. Nature, 203 : 765-766, 1964
- 7) Smith, R. E. and Roberts, J. C. : Thermogenesis of brown adipose tissue in cold-acclimated rats. Am. J. Physiol., 206 : 143-148, 1964
- 8) Roberts, J. C. and Smith, R. E. : Time-dependent responses of brown fat in cold-exposed rats. Am. J. Physiol., 212 : 519-525, 1967
- 9) Dawkins, M. J. R., Duckett, S. and Pearese, A. G. E. : Localization of catecholamines in brown fat. Nature, 209 : 114-1145, 1966
- 10) Dawkins, M. J. R. and Hull, D. : Brown adipose tissue and the response of new-born rabbits to cold. J. Physiol., 172 : 216-238, 1964
- 11) Hull, D. and Segall, M. M. : The contribution of brown adipose tissue to heat production in the new-born rabbit. J. Physiol., 181 : 449-457, 1965
- 12) 太田隆造：ラットの褐色脂肪組織温。北海道医誌，44：57-63，1969
- 13) Imai, Y., Horwitz, B. A. and Smith, R. E. : Calorigenesis of brown adipose tissue in cold-exposed rats. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 127 : 717-719, 1968
- 14) Davis, T. R. A. and Mayer, J. : Nature of physiological stimulus for shivering. Am. J. Physiol., 181 : 669-674, 1955
- 15) Hsieh, A. C. L. and Carlson, L. D. : Role of adrenalin and noradrenalin in chemical regulation of heat production. Am. J. Physiol., 190 : 243-246, 1957
- 16) 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
- 17) LeBlanc, J. and Pouliot, M. : Importance of noradrenaline in cold adaptation. *Am. J. Physiol.*, 207 : 853-856, 1964
 - 18) LeBlanc, J. and Villemaire, A. : Thyroxine and noradrenaline on noradrenaline sensitivity, cold resistance, and brown fat. *Am. J. Physiol.*, 218 : 1742-1745, 1970
 - 19) LeBlanc, J., Robinson, D., Sharman, D. F. and Tousignant, P. : Catecholamins and short-term adaptation to cold in mice. *Am. J. Physiol.*, 213 : 1419-1422, 1967
 - 20) LeBlanc, J. : Effects of reserpine on increased sensitivity to noradrenaline of cold-adapted animals. *J. Appl. Physiol.*, 21 : 661-664, 1966
 - 21) LeBlanc, J., Vallieres, J. and Vachon, C. : Beta-receptor sensitization by repeated injections of isoproterenol and by cold adaptation. *Am. J. Physiol.*, 222 : 1043-1046, 1972
 - 22) Hseih, A. C. L. and Wang, J. C. C. : Calorigenic responses to cold of rats after prolonged infusion of norepinephrine. *Am. J. Physiol.*, 221 : 335-337
 - 23) Nagasaka, T. : Effects of daily infusion of noradrenaline on metabolism and temperature in rabbits. *J. Appl. Physiol.*, 32 : 199-202, 1972
 - 24) Edmonson, J. H. and Goodman, H. M. : Effect of reserpine on fatty acid mobilization. *Pro. Soc. Ex. Biol. Med.*, 100 : 761-764, 1962
 - 25) Haggendal, J., Lindqvist, M. and Roos, B. E. : Further studies on monoamine metabolism and behaviour in rabbits chronically treated with reserpine. *Acta. Physiol. Scand.*, 69 : 95-101, 1967
 - 26) Hahn, P., Drahota, Z., Skala, J., Kazda, S. and Towell, M. E. : The effect of cortison on brown adipose tissue of young rats. *Can. J. Physiol.*, 47 : 975-980, 1969
 - 27) Skala, J. and Hahn, P. : Effects of single cortison injections on brown adipose tissue of developing rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 49 : 501-507, 1971
 - 28) Lachance, J. P. and Pagé, E. : Hormonal factors influencing fat deposition in the interscapular brown adipose tissue of the white rat. *Endocrinology*, 52 : 57-64, 1953
 - 29) Fawcett, D. W. and Jones, I. C. : The effects of hypophysectomy, adrenalectomy and thiouracil feeding on the cytology of brown adipose tissue. *Endocrinology*, 45 : 609-612, 1946
 - 30) Napolitano, L., McNary, J. E. and Kloep, L. P. : The release of free fatty acids from brown and white adipose tissues after incubation with ACTH or epinephrine. *Metabolism*, 14 : 1076-1083, 1965
 - 31) Joel, C. D. : Stimulation of metabolism of rat brown adipose tissue by addition of lipolytic hormones in vitro. *J. Biol. Chem.*, 241 : 814-821, 1966
 - 32) Sisson, J. C. : Thyrotropin and the rat hemidiaphragm. *Endocrinology*, 74 : 643-645, 1964
 - 33) Smith, R. E. and Hoiyer, D. J. : Metabolism and cellular function in cold acclimation. *Physiol Rev.*, 42 : 60-142, 1962
 - 34) Woods, R. and Carlson, L. D. : Thyroxine secretion in rats exposed to cold. *Endocrinology*, 59 : 323-330, 1956
 - 35) Yamada, T., Kajihara, A., Onaya, T., Kobayashi, I., Takemura, Y. and Shichijo, K. : Studies on acute stimulatory effect of cold on thyroid activity and its mechanism in the guinea pig. *Endocrinology*, 77 : 968-976, 1965
 - 36) Intoccia, A. and Van Middlesworth, L. : Thyroxine excretion increase by cold exposure. *Endocrinology*, 64 : 462-464, 1959
 - 37) Hsieh, A. C. L. and Carlson, L. D. : Role of the thyroid in metabolic response to low temperature. *Am. J. Physiol.*, 188 : 40-44, 1957
 - 38) Johnson, G. E., Schonbaum, E. and Seller, E. A. : Cold exposure : Pharmacologic investigation of the compensatory mechanisms in the

- maintenance of normothermia. *Feder. Pro.*, 25 : 1216-1219, 1966
- 39) Joy, R. J. T. and Mayer, J. : Caloric expenditure in cold acclimating rats : an isogravimetric comparison. *Am. J. Physiol.*, 215 : 757-761, 1968
- 40) Hsieh, A. C. L., Pun, C. W., Li, K. M. and Ti, K. W. : Circulatory and metabolic effects of noradrenaline in cold-adapted rats. *Feder. Pro.*, 25 : 1205-1209, 1966
- 41) 柳平坦徳, 岡野 照 : 小哺乳類における産熱および防熱機構 3, ラットの寒冷刺激における褐色脂肪組織量と P^{32} とりこみ量の変化. *成長*, 13 : 27-32, 1974
- 42) Steiner, G. and Cahill, G. F. : Brown and white adipose tissue metabolism in cold-exposure rats. *Am. J. Physiol.*, 207 : 840-844, 1964
- 43) Kodama, A. M. and Pace, N. : Effect of environmental temperature on hamster body fat composition. *J. Appl. Physiol.*, 19 : 863-867, 1964
- 44) Paul, P. and Holmes, W. L. : FFA metabolism in thyroidectomized and normal dogs during rest and acute cold exposure. *J. Appl. Physiol.*, 35 : 250-258, 1973
- 45) Kuroshima, A., Konno, N. and Itoh, S. : Increase in the blood flow through brown adipose tissue in responses to cold exposure and norepinephrine in the rat. *Jap. J. Physiol.*, 17 : 523-537, 1967
- 46) Hagan, J. H. : Lipid metabolism in warm-acclimated and cold-acclimated rats exposed to cold. *Canad. J. Physiol. Pharm.*, 43 : 379-403, 1965
- 47) Thomson, J. F., Habeck, D. A., Nance, S. L. and Beetham, K. L. : Ultrastructural and biochemical changes in brown fat in cold-exposed rats. *J. Cell. Biol.*, 41 : 321-334, 1969
- 48) Ohno, T., Kurahashi, M. and Kuroshima, A. : Effect of cold acclimation on changes in blood metabolites induced by high-fat diet. *J. Physiol. Soc. Japan.*, 37 : 310-312, 1975
- 49) Jansky, L. and Hart, J. S. : Participation of skeletal muscle and kidney during non-shivering thermogenesis in cold acclimated rats. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 41 : 954-964, 1963
- 50) Hemingway, A. : Shivering. *Physiol. Rev.*, 43 : 367-442, 1963
- 51) Sellers, E. A., Scott, J. W. and Thomas, N. : Electrical activity of skeletal muscle of normal and acclimatized rats on exposure to cold. *Am. J. Physiol.*, 177 : 372-376, 1954
- 52) Brück, K., Wünnenberg, W. and Zeisberger, E. : Intergration of nonshivering thermogenesis in the thermoregulatory system. *Academica. Prague.* : 287-305, 1971
- 53) Haitlinger, R. : Seasonal variation of pelage in representatives of the genus *apodemus kaup*, 1829, found in poland. *Zoologica poloniae*, 18 : 329-345, 1968
- 54) Haitlinger, R. : Comparative studies on the morphology of hair in representatives of the genus *apodemus kaup*, 1829, found in Poland. *Zoologica Poloniae*, 18 : 347-380, 1968

(52. 12. 24 受稿)