

原 著

ラットの褐色脂肪組織重量と耐寒性について

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

BROWN ADIPOSE TISSUE WEIGHT AND COLD RESISTANCE IN RATS

Yasunori YANAGIDAIRA

Department of Physiology, Institute of Adaptation Medicine,
Faculty of Medicine, Shinshu University

Key words: 褐色脂肪組織 (brown adipose tissue), ノルエピネフリン (norepinephrine), 摘出 (removal), 埋めこみ (imbedding), 耐寒性 (cold resistance)

緒 言

寒冷環境下における生体の体温調節において近年褐色脂肪組織は非震え産熱に関する重要な組織として注目されはじめています。

Smith and Robert¹⁾の実験によると、寒冷曝露ラットでは褐色脂肪組織の増加とともに、酸素消費量が増加し、その酸素消費総量は対照ラットに比較して3~6倍に増大している。また褐色脂肪組織の産熱はその重量の増加とともに、寒冷曝露の続くかぎり上昇しつづけるといわれている²⁾。またノルエピネフリン(以下NEと略)を投与されたラットでも褐色脂肪組織量の増加がみられるとともに、酸素消費量の増加もみられるといわれている³⁾。これらの実験結果より、褐色脂肪組織の増加と産熱量の増加は正の相関をもっており、褐色脂肪組織の増減は寒冷時における動物の産熱を左右させる要因となることが予想される。しかしこの組織の有無、またはその重量と生体の耐寒性との関係までを検討した実験はあまりなされていない。本実験はラットを用いて褐色脂肪組織を摘出または埋めこむことにより、組織量を変化させ、そのさいの各動物の耐寒性を求めた。また動物にNE投与、あるいは寒冷曝露刺激等の条件を与え同様に耐寒性を求め、褐色脂肪組織量の変化と耐寒性との関係について比較検討を加えた。

実験方法

実験動物には体重170g前後のWistar系雄ラット50匹を用い、実験群は次の5群に分けられた。

1…肩甲骨間褐色脂肪組織摘出群, 2…肩甲骨間褐色脂肪組織埋めこみ群, 3…NE投与群, 4…寒冷曝露群, 5…対照群。4においては、 $5 \pm 1^\circ\text{C}$ 、残りの群においては $20 \pm 2^\circ\text{C}$ である。3~5群の動物についても肩甲骨間褐色脂肪組織部分に偽手術をほどこし、NE投与群にはNEをRinger-Locke液に溶解したものを $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ を連日、対照群にはRinger-Locke液のみをそれぞれ0.2ccずつ腹腔内に投与した。飼育期間中、各群の体重の変化を記録し、2週間の飼育期間終了後、各個体の寒冷耐性測定のため図1のような凍死実験装置を用いて実験をおこなった。この装置は厚さ1.5cmのコルク板に数個の穴をあけ、動物の四肢をその穴に通し、ひもとテープで固定し、万能スタチーフにとりつけ、任意の位置に動かせるようにしたものである。動物の直腸温測定には熱電対表面温度計を用い、そのピックアップを肛門より約5cm挿入して直腸温を測定した。また心拍数測定は、前頭骨部、背部中央部、後肢大腿骨部の3ヶ所に電極をとりつけ、心電計に接続しておこなった。固定後約10~15min放置して動物が安静になってから、 5°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

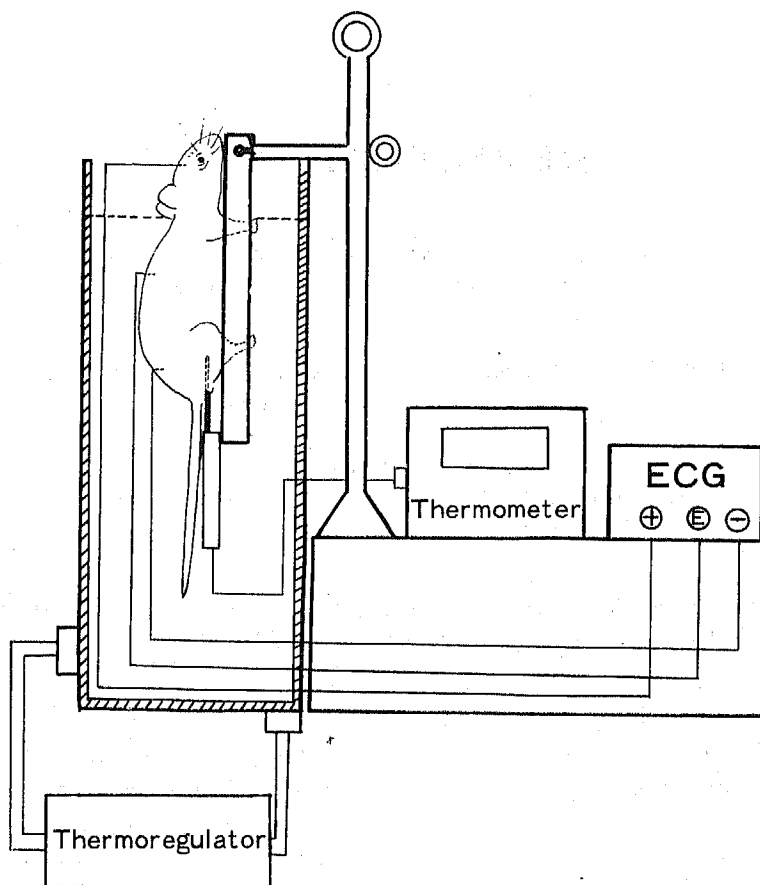


Fig. 1. Experimental device.

こなつた。浸水時間の最高時間は120minまでとし、動物の生存時間は便宜上、呼吸停止がおり、心拍の停止が1min以上続いた時を、その個体の死亡時間と判定し、それまでの時間を生存時間として取り扱った。

成 績

1. 飼育期間中の体重変化

図2は各群の体重の変化を示したものである。図でも明らかなごとく、肩甲骨間褐色脂肪組織摘出群、埋めこみ群、対照群の3群とも体重の増加過程が非常によく似たパターンを示している。NE投与群は投与第1日目に体重の減少がみられ、投与3日後に体重の増加がおり、以後上記3群とほぼ同様な増加曲線となる。5°C寒冷曝露群の体重は、曝露6日目までに約30gの体重減少がおり、以後増加傾向を示すが2週

間では曝露前の値には戻らない。

2. 褐色脂肪組織重量ならびにその構成成分

動物の肩甲骨間褐色脂肪組織を摘出し、その重量を測定した。

ついでこの組織をクロロホルム、メタノール(2:1)で全脂質を抽出した。その成績を第1表に示した。肩甲骨間褐色脂肪組織重量では、埋めこみ群の組織重量は対照群と比較して増加していない。もっとも組織重量が増加したのは寒冷曝露群で、絶対値および体重あたりの値ともに対照群を有意に上回る。またNE投与群では絶対値では差がみられないが、体重あたりの組織重量では対照群に対して有意な増加を示した。褐色脂肪組織の脂肪量(%)については寒冷曝露群においてのみその割合が減少し、対照群との差は有意であった。NE投与群では脂肪量が減少する傾向がみられたがその差は有意ではなかった。

ラットの褐色脂肪組織重量と耐寒性について

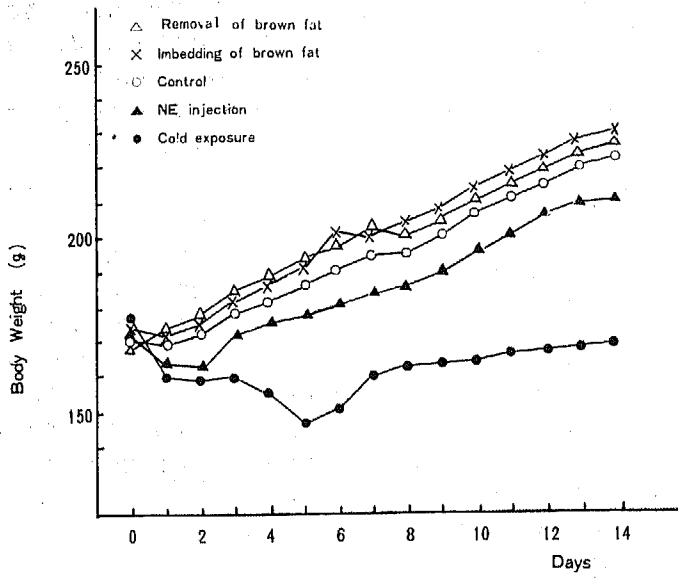


Fig. 2 Changes in body weight of rats under various conditions. Each point represents the mean value from 10 animals.

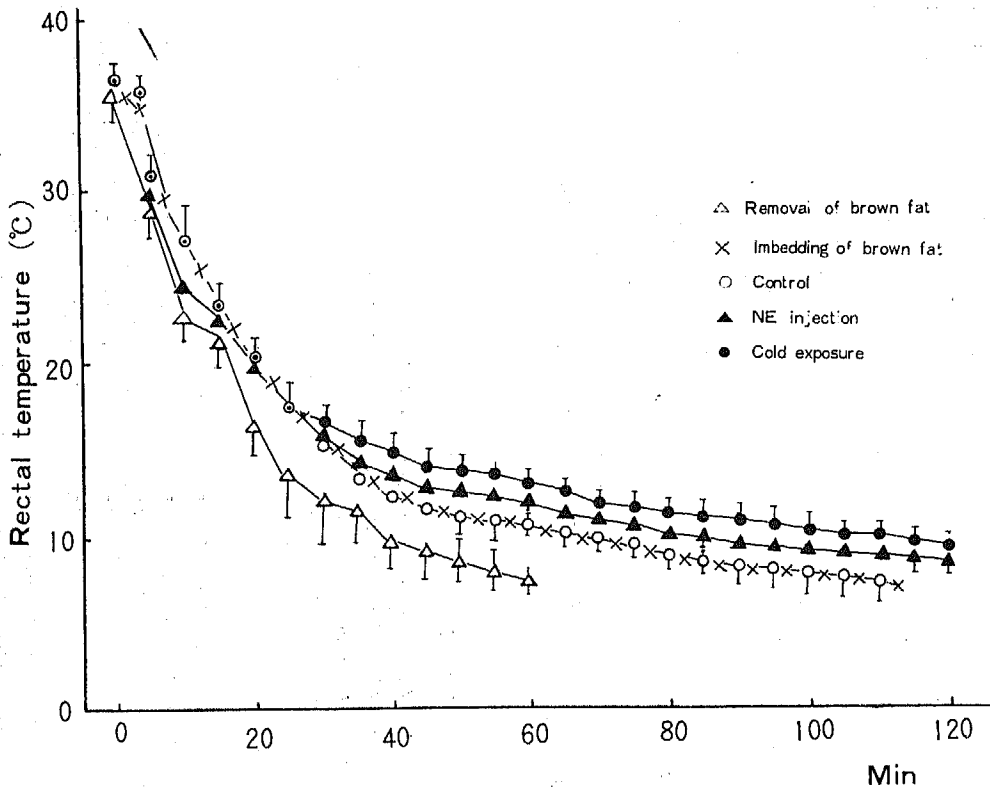


Fig. 3. Changes in rectal temperature of rats during immersion in water of 5°C.

Table 1. Weight and composition of brown fat in rats.

Groups	Interscapular brown fat		Interscapular brown fat composition			
	Body weight (g)	(mg)	(mg/g-body wt)	Lipid (%)	H ₂ O (%)	Fat-free dry material (%)
Removal of brown fat	(10) 256.0 ± 18.2	181.9 ± 9.5	0.725 ± 0.035	39.5 ± 9.6	49.7 ± 6.4	10.8 ± 7.8
Imbedding of brown fat	(10) 250.6 ± 15.8	213.0 ± 8.5	0.923 ± 0.041*	34.0 ± 8.5	51.5 ± 5.7	14.5 ± 6.2
NE injection	(10) 230.7 ± 20.4	239.0 ± 11.5*	1.473 ± 0.040*	24.6 ± 6.6*	53.8 ± 10.5	21.6 ± 5.9*
Cold exposure	(10) 162.3 ± 22.5*	182.8 ± 7.0	0.769 ± 0.030	37.5 ± 6.0	50.7 ± 4.8	11.8 ± 4.9
Control	(10) 237.6 ± 11.2					

Values are the mean values ± S.E.

The number of animals used for each value is in parentheses.

*P<0.05 when compared with control level.

3. 凍死実験中の直腸温の変化

5°C 冷水中に浸水されたラットの直腸温は約 5min もたたぬうちに急激な低下を示す (図3)。直腸温の

Table 2. Evaluation of cold resistance.

- A When the rectal temperature fell below 10°C (min)
- B When the heart rate fell below 60/min (min)
- C Average resistance time (min)
- D Number of survival individuals

Groups	A B C D			
	A	B	C	D
Removal of brown fat	(5) 40.0 ± 3.2	38.0 ± 2.1*	72.0 ± 7.5	0
Imbedding of brown fat	(5) 60.0 ± 2.8	54.0 ± 2.2	104.0 ± 4.3	3
NE injection	(5) 79.0 ± 3.0*	68.0 ± 3.3*	112.0 ± 7.1	4
Cold exposure	(5) 93.0 ± 5.7*	87.0 ± 3.6*	118.0 ± 1.8*	4
Control	(5) 57.0 ± 4.4	50.0 ± 2.4	91.0 ± 7.3	3

Values are the mean values ± S.E.

The number of animals used for each value is in parentheses.

*P<0.05 when compared with control level.

低下してゆく過程において、各群間にかかなりの違いがみられる。浸水後 5min 位はいずれの群間にも差は認められないが、10min 頃より差があらわれはじめ、特に肩甲骨間褐色脂肪組織摘出群での低下が著明となり、35min 後には寒冷曝露群と NE 投与群の両群との差は有意となる。さらに 45min 後には対照群との差も有意となった。

4. 寒冷耐性の判定

耐寒性の指標をつぎのように定め、各指標についてその結果をまとめて検討した。(A) 凍死実験中に直腸温が 10°C 以下になった時間 (min)。(B) 凍死実験中に心拍数が 60/min 以下になった時間 (min)。(C) 凍死実験における平均生存時間 (min)。(D) 凍死実験で生存した個体数。以上 (A)~(D) までの結果について表2に示した。表にみられるごとく、肩甲

骨間褐色脂肪組織摘出群は(A)~(D)までの値が他群と比較して著しく低い。また(B)の値は対照群と比較して有意に減少している。肩甲骨間褐色脂肪組織埋めこみ群について、いずれの指標についても対照群との間に差は認められない。NE投与群においては(A)、(B)について対照群と比し有意の増加を示す。寒冷曝露群では(A)~(C)までのすべてが対照群に対して有意な増加を示し、他群より著しく耐寒指数が高い。

考 察

寒冷時において、褐色脂肪組織が冬眠動物⁴⁾⁵⁾⁶⁾、実験用動物⁷⁾⁸⁾の産熱器官として重要な役割を果すことは多くの報告にみられる。野生のネズミ類についても寒冷地に生息する個体ほどこの組織重量が増加し、その増加量は体重の増加にともなって著しく増加している⁹⁾。野生のネズミ類の生活様式は種によって異なるが、褐色脂肪組織重量の変化はその生活様式に起因した一つの適応現象と考えられる¹⁰⁾。

今回の実験においても寒冷曝露群は他群に比較して褐色脂肪組織重量が著しく増加している。また凍死実験中における直腸温および心拍数の低下が他群と比較して少なく、耐寒指数(表2)の(A)~(C)の値ではもっとも高い値となっている。この結果は、寒冷曝露と褐色脂肪組織重量、寒冷曝露と耐寒性との関係が非常に密接な関係にあることを意味している。寒冷曝露群について褐色脂肪組織重量の多いのはNE投与群であるが、その量は対照群と比較して、体重あたりの組織量で有意差を示す。また耐寒指数でも(A)~(B)の値は対照群に対して有意な増加となっている。これらの結果より寒冷曝露刺激、NE投与による生体自身に対する刺激条件は、褐色脂肪組織重量を増加させ、耐寒性をも増強させることが明らかにされた。そこで今回褐色脂肪組織自身が直接耐寒性に関与するかどうかについて摘出および埋めこみの実験により確かめてみた。肩甲骨間褐色脂肪組織摘出群での耐寒指数については(A)~(C)の値が著しく他群と比較して低下していることがわかる(表2)。肩甲骨間褐色脂肪組織重量はラットの全褐色脂肪組織重量の約50%を占めているため、この部分の組織摘出は褐色脂肪組織のはたらきを大きく減弱させるものと予想される。しかし肩甲骨間褐色脂肪組織埋めこみ群では(A)~(C)の値は対照群をわずかに上回るが、その差は有意ではない。組織を埋めこんだので、ふつうならその組織量

も増加するはずであるが、生体に完全に移植され、組織が血管系に連絡した個体は10例中2例のみであり、残り8例は生体に吸収されてしまい、痕跡のみがみられただけで、組織重量の増加には寄与していない。Morrison and Allen¹¹⁾は冬眠動物の褐色脂肪組織をシロネズミに移植したさい、225~250mgの移植組織が約1ヶ月後に70mgになったと報告している。褐色脂肪組織自身が生体におよぼす耐寒性の影響についてみると、組織摘出群では耐寒性が減弱したのに対して、組織埋めこみ群では耐寒性に変化がみられず、褐色脂肪組織が直接、耐寒性に関与するという証明は得られなかった。しかし前述のごとく、埋めこみ後の組織が完全に移植されない場合には、その利用については明らかでなく、従って生体にどのような作用をもたらしたかは不明である。組織の直接的なはたらきを検討するためには、ホモジネイトした組織を連続的に投与した後に、耐寒性を検討するか、または寒冷曝露時にホモジネイトした組織を投与して、その生理的な変化を検討した方が、はっきりした結果が得られるのかもしれない。本実験の埋めこみという方法に問題があったのかもかもしれない。

組織摘出群を除外して、各個体間の褐色脂肪組織重量と耐寒指数との相関関係をみると、(A)、(B)におけるそれぞれの相関係数(r)は0.76、0.72となり5%有意水準で有意な相関が認められる。褐色脂肪組織に積極的な熱産生があり、耐寒性を増強させるはたらきがあるとすれば、組織増加により耐寒性増加がおこるという関係がなりたつものと思われる。しかし、組織増加が直接耐寒性に関与しない場合は、この組織増加現象は耐寒性増強時にみられる一つの過程にすぎないと考えなければならない。いずれにせよ、この組織変化が動物の耐寒性を検討するうえで一つの指標となることは間違いはないようである。

動物の非震え産熱現象においては、Hsieh and Carlson¹²⁾¹³⁾は甲状腺ホルモン、カテコールアミンの役割が大きいことを強調している。特にNE投与による動物の生理的变化は、酸素消費量、褐色脂肪組織重量の変化の他に、褐色脂肪組織の血流量増加現象¹⁴⁾など寒冷曝露時にみられる変化とほとんど似たような傾向をもっている。このことよりNEと寒冷曝露との関係について検討することは非震え産熱現象を解明する上で重要なことであろう。寒冷曝露によりカテコールアミンの分泌は当然変化するものと考えられるので、特にNE量について検討してみたい。副腎での変化は

Moore¹⁵⁾らによると、寒冷順化により副腎のNE含量が著明に増加すると報告している。褐色脂肪組織におけるNE含量はラットで約 $0.5\mu\text{g}/\text{g}$ の値を示すが、寒冷曝露により増減するかどうか明らかではない。このため褐色脂肪組織のNEの寒冷時における量および代謝速度を正確に測定することが必要になってくる。NE投与の効果は褐色脂肪組織以外の組織または臓器にも関連があると思われるが、この問題についてDepocas¹⁷⁾は機能的に内臓を摘除した寒冷曝露ラットでも、NE投与により代謝促進反応がみられたとし、Jansky and Hart¹⁸⁾は後肢筋の酸素消費を測定し、寒冷曝露またはNE投与により酸素消費が増加したことより、産熱に関しては骨格筋の占める役割が大であることを指摘している。現在のところ非震え産熱の発現に関しては、褐色脂肪組織、骨格筋、内臓諸機能および内分泌系などはたらきについて検討されているが、動物の寒冷耐性を加味した実験は少ない。本実験においてNE投与ラットに耐寒性の増強が認められたことは非常に興味深く、寒冷適応現象を説明するためにはNEと寒冷との関係を十分検討する必要があるように思われる。

結 語

ラットの褐色脂肪組織について、摘出および埋めこみ手術をおこない、また寒冷曝露刺激、NE投与の条件を加えたそれぞれの群において、動物の耐寒性を検討した。さらに動物の耐寒性と褐色脂肪組織重量との関係についても考察を加えた。耐寒性の指標には凍死実験中に得られた直腸温、心拍数の経時的変化および生存時間などを用いた。その結果、

1. 褐色脂肪組織摘出群ラットは、寒冷耐性指数がもっとも低く、対照群ラットと比較して有意に低下している。
2. 褐色脂肪組織埋めこみ群のラットでは、対照ラットと比較しても、寒冷耐性に有意差は認められない。また埋めこみ組織のほとんどが吸収されたため、褐色脂肪組織重量の増加を示さず、組織重量にも対照群との差がみられない。
3. NE投与ラットにおける寒冷耐性および褐色脂肪組織重量は、いずれも対照群ラットのそれを上回っている。
4. 寒冷曝露群ラットは、各群でもっとも高い耐寒性を示し、また褐色脂肪組織重量も最大値となっている。

5. 褐色脂肪組織摘出群を除いた各個体間の耐寒指数と褐色脂肪組織重量との間の関係をみると、ほぼ正の相関がみられる。しかしこの関係が、褐色脂肪組織自身による積極的なはたらきによるものかどうかについては、明らかではない。

6. 寒冷曝露刺激、NE投与による生体の耐寒性の増強、非震え産熱現象などについて考察した。

終りに臨み、本実験において御助言御、校閲していただいた信州大学医学部助教授本山十三生博士に心から感謝の意を表します。

本論文の要旨は第4回成長談話会大会にて報告した。

文 献

- 1) Smith, R. E. and Roberts, J. C.: Thermogenesis of brown adipose tissue in cold-acclimated rat. *Amer. J. Physiol.*, 206: 143-148, 1964
- 2) Roberts, J. C. and Smith, R. E.: Time-dependent responses of brown fat in cold-exposed rats. *Amer. J. Physiol.*, 212: 519-523, 1967
- 3) LeBlanc, J. and A. Villemaire: Thyroxine and noradrenaline on noradrenaline sensitivity, cold resistance, and brown fat. *Amer. J. Physiol.*, 218: 1742-1745, 1970
- 4) Hsieh, A. C. L. and Wang, J. C.: Calorigenic responses to cold of rats after prolonged infusion of norepinephrine. *Amer. J. Physiol.*, 221: 335-337, 1971
- 5) Smally, R. L. and Dryer, R. L.: Brown fat: Thermogenic effect during arousal from hibernation in the bat. *Science*, 140: 1333-1334, 1963
- 6) Smith, R. E. and Hock, R. J.: Brown fat: Thermogenic effector of arousal in hibernators. *Science*, 140: 199-200, 1963
- 7) Smith, R. E.: Thermoregulatory and adaptive behavior of brown adipose tissue. *Science*, 146: 1686-1689, 1964
- 8) Cameron, I. L. and Smith, R. E.: Cytological response of brown fat tissue in cold-exposed rat. *J. Cell. Biol.*, 23: 89-100, 1964
- 9) 柳平坦徳: 1. ヒメネズミにおける褐色脂肪組織

重量の相対成長および高度差. 成長, 8 : 63-69, 1969

- 10) 柳平坦徳 : 2. 野生ネズミ類における褐色脂肪組織重量の季節差ならびに標高差. 成長, 11 : 33-38, 1972
- 11) Morrison, P. and Allen, W. T. : Temperature response of white mice to implants of brown fat. *J. Mammalogy.*, 43 : 13-17, 1962
- 12) Hsieh, A. C. L. and Carlson, L. D. : Role of the thyroid in metabolic response to low temperature. *Amer. J. Physiol.*, 188 : 40-44, 1957
- 13) Hsieh, A. C. L. and Carlson, L. D. : Role of adrenaline and noradrenaline in chemical regulation of heat production. *Amer. J. Physiol.*, 190 : 243-246, 1957
- 14) Kuroshima, A., Konno, N. and Itoh, S. : Increase in the blood flow through brown adipose tissue in response to cold exposure and norepinephrine in the rat. *Jap. J. Physiol.*, 17 : 523-537, 1967
- 15) Moore, R. E., Calvert, D. N. and Brody, T. M. : Tissue catecholamine content of cold-acclimated rats. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 106 : 816-818, 1961
- 16) Weiner, N., Perkins, M., and Sidman, R. L. : Effect of reserpine on noradrenalin content of innervated and denervated brown adipose tissue of the rat. *Nature*, 193 : 137-138, 1962
- 17) Depocas, F. : The calorogenic response of cold-acclimated white rats to infused noradrenaline. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 38 : 107-114, 1960
- 18) Jansky, L. and Hart, H. S. : Participation of skeletal muscle and kidney during non-shivering thermogenesis in cold acclimated rats. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 41 : 954-964, 1963

(1974. 8. 16 受稿)