

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

臨床体温 (1998.08) 16巻1号:22～29.

熱産生器官 褐色脂肪組織脂肪酸組成の適応変化

大日向浩, 大野都美恵, SahaS.K., 黒島晨汎

総説

熱産生器官—褐色脂肪組織脂肪酸組成の適応変化

大日向浩 大野都美恵\* Saha S. K. 黒島晨汎

旭川医科大学医学部 生理学第一講座, 北海道教育大学旭川校家庭科\*

〒078-8510 旭川市西神楽4線5号3-11

**要旨:** 非ふるえ熱産生組織である褐色脂肪組織の機能亢進時に、膜リン脂質脂肪酸の不飽和度が増大する事が知られている。最近我々は特に種々の生理活性が明らかにされている n-3 多不飽和脂肪酸・ドコサヘキサエン酸 (DHA) に注目し、寒冷馴化、拘束ストレス負荷、並びに新生期ラットにおいて再検討したところ、*in vitro* 熱産生能の変化と呼応して DHA レベルが増減する事を見出した。一方、DHA 長期経口投与は褐色脂肪組織の DHA レベルを上昇させたが、アラキドン酸レベルの低下により全体としての不飽和度は変化しなかった。褐色脂肪組織の *in vitro* 熱産生能は DHA 投与で変化せず、投与期間を更に延長すると逆に抑制された。以上の結果から、褐色脂肪組織膜リン脂質 DHA レベルの上昇は、他の多不飽和脂肪酸特にアラキドン酸レベルの増加を伴う不飽和度の増加が起こる時に、褐色脂肪組織熱産生能の促進をもたらす可能性が示唆された。

**キーワード:** 褐色脂肪組織, 脂肪酸組成, ドコサヘキサエン酸

[白色脂肪組織と褐色脂肪組織]

恒温動物が寒冷環境に暴露されると、体温低下を招くような寒冷下でも体温を維持し正常に生活できるような適応性の生理的調節反応が起こる。この生理的寒冷適応には熱放散抑制と熱産生亢進があり、特にラットやマウスなどの小型の哺乳動物やヒトでは熱産生亢進が重要である事が知られている。この熱放散の抑制と熱産生亢進には、共に脂肪組織が大きく関わっている。

哺乳動物の脂肪組織は脂肪細胞を主とした結合組織であり、白色並びに褐色脂肪組織の2種類に分類される。前者は体内の過剰エネルギーを主にトリアシルグリセロールの形で貯蔵し、必要に応じてそのエネルギー源を他の組織へ供給する。寒冷適応時の熱放散の抑制には、皮膚血管の収縮による皮膚温度の低下の促進などと共に皮下の白色脂肪組織の脂肪蓄積による断熱性亢進が重要である。

一方、急性寒冷暴露時には、骨格筋の拮抗筋同士

が不随意的かつ同時に収縮し、そのエネルギーの大部分が熱になる現象である「ふるえ熱産生」が起こる。しかし皮膚振動による空気の対流促進・筋血流増加による末梢の断熱性低下などが結果として熱放散をも増加させる。そのため、より期間の長い寒冷暴露に際しては、さらに効率の良い「非ふるえ熱産生」によって置換され、代謝性寒冷馴化が獲得される事となる。褐色脂肪組織はこの「非ふるえ熱産生」の主要部位として知られ、豊富な血管網と交感神経を有し、エネルギー基質としては主に脂肪酸を用いる代謝活性の高い組織である。また褐色脂肪組織は、この寒冷暴露時の熱産生亢進の他、過剰に摂取されたエネルギーに対する緩衝装置として、エネルギー平衡の現象にも働く重要な適応性器官であると考えられている<sup>1)</sup>。

[非ふるえ熱産生と脱共役タンパク質]

褐色脂肪組織での著しい熱産生は、褐色脂肪細胞

のミトコンドリア内膜に局在する脱共役タンパク質 (UCP) が酸化的リン酸化を脱共役させる事により生じる。1997年に、従来のUCP (UCP 1) とは発現の組織特異性が著しく異なる2つのサブタイプがネズミのみならずヒト成人でも相次いで同定された。広範な組織で発現するUCP 2に対し、UCP 3は組織特異性が高く特に骨格筋での発現が著しい<sup>2)</sup>。ネズミの褐色脂肪組織では3つのUCPタイプが発現している<sup>2)</sup>。

各UCPの機能分担は今はまだ明らかではないが、UCP 1遺伝子のノックアウトマウスでは耐寒性が低下するが過剰に体重が増加 (肥満発症) せず、褐色脂肪組織のUCP 2 mRNA レベルの増加が認められる事<sup>3)</sup>、遺伝子組換えの手法により褐色脂肪組織を部分的に除去したトランスジェニックマウスでは過食と共に体重が増加する事などが報告されている<sup>4)</sup>。新たに見つかったUCPサブタイプが生体において果たす役割は非常に興味深く、今後の研究の進展が待たれる。

#### [非ふるえ熱産生の亢進と褐色脂肪組織]

ラットなどを中等度の寒冷に暴露すると非ふるえ熱産生は安静時代謝の2~3倍に亢進し、その60%以上を褐色脂肪組織が担う事が知られている。本組織の機能調節にはグルカゴンや甲状腺ホルモンなどの複数の内分泌性因子が関わるが、交感神経終末から放出されるノルアドレナリンが最も主要なものである。

褐色脂肪細胞の熱産生並びに脂肪分解は、近年新たに同定された $\beta_3$ アドレナリン受容体を介して行われる。寒冷暴露に際して褐色脂肪細胞はノルアドレナリンの持続刺激により脱感作を起こすと考えられ、事実 *in vitro* 系での組織の熱産生反応は寒冷馴化により低下する<sup>1)</sup>。しかし、 $\beta_3$ 受容体は他の $\beta$ 受容体のような細胞内領域のリン酸化部位を持たず、リン酸化による脱感作機構が起こり得ない<sup>5)</sup>。また、 $\beta_3$ 受容体以降の情報伝達分子であるcAMPの膜透過性アナログを *in vitro* 系に加えても、この脱感作現象は改善されない<sup>1)</sup>。

一方、ラットに非温熱性刺激である拘束ストレスを反復的に負荷 (毎日3時間金網で木板に固定を4週間) すると、褐色脂肪組織の増殖と熱産生能亢進が起こり耐寒性が改善され、寒冷刺激との間の正の交叉適応を示すが、*in vitro* 熱産生能は増加しているため、寒冷馴化群とは明らかに異なる事が注目される<sup>1)</sup>。

寒冷馴化は褐色脂肪組織の熱産生能の生化学的指標であるUCP 1の増加とミトコンドリアレベルでの呼吸促進をもたらすが、寒冷馴化ラットで見られる *in vivo* と *in vitro* の熱産生能の乖離現象の機序は今だ十分に解明されていない。その機序はともかくおそらく細胞レベルで発現するこの抑制機構の意義は、過大な熱産生反応を制御する適応性変化であろう。

#### [膜リン脂質脂肪酸組成]

不飽和結合 (二重結合) をもつ脂肪酸は生物のほとんどの細胞に含まれ、特に生体膜のリン脂質に多い。不飽和脂肪酸はその含量によって脂肪の融点や流動性に影響をもたらすが、物性や分子形状が飽和脂肪酸のものとはかなり異なり、生体内において飽和脂肪酸とは違う機能を担うと考えられる。膜脂質の不飽和脂肪酸は流動性などの膜の物理的性質を最適に保ち、膜の機能発現や膜結合性タンパク質の安定化において重要な機能を担う事が様々な組織で報告されている。寒冷馴化ラットでは褐色脂肪組織中のトリアシルグリセロールやリン脂質の脂肪酸組成が変化するという報告があり<sup>6)</sup>、本組織の熱産生にパルミチン酸やリノール酸が優先利用される事、リン脂質を構成する脂肪酸組成が細胞膜に影響を与えて組織機能を変化させる事が示唆されていた。

これらの事実を踏まえて、1987年以来当教室では、温熱および非温熱刺激時の褐色脂肪組織熱産生能の変化と膜リン脂質脂肪酸組成との関係を調べてきた。その生理学的意義と機序は未だ十分には理解されていないが、褐色脂肪組織が機能亢進を起す寒冷馴化や拘束ストレス負荷<sup>1)</sup>、出生後間もないラット<sup>7)</sup>において本組織のリン脂質脂肪酸組成の不飽和度が高

い事を報告している。

また、逆に多不飽和脂肪酸の経口投与により、褐色脂肪組織の膜リン脂質に取り込まれ<sup>8)</sup>、本組織を活性化させる事が知られ<sup>9)</sup>、多不飽和脂肪酸の役割が注目されている。これらの事より、リン脂質膜脂肪酸組成と褐色脂肪組織機能との間に密接な関係がある事が推測される。おそらく膜流動性の促進が本細胞機能の改善をもたらすと考えられる。

**[環境刺激による褐色脂肪組織膜リン脂質脂肪酸分子種の変化]**

不飽和脂肪酸は、二重結合の位置により、n-3・n-6・n-9系などに分けられ、n-3系とn-6系は必須脂肪酸として知られる。また、n-3系脂肪酸は種々の重要な生理機能を持ち、特にドコサヘキサエン酸(DHA)が脳と網膜の生後発達に必須だけでなく、恒温動物の高い代謝活性、心筋などの代謝活性に関わる事が指摘されている<sup>10,11)</sup>。従来の当教室の分析法ではこのDHAを分離検出できなかったが、

最近キャピラリーカラムによるガスクロマトグラフィーを行う事で褐色脂肪組織の膜リン脂質のDHA検出が可能となった。そこで、DHAの変化に注目しつつ本組織におけるリン脂質脂肪酸組成の変化とその役割について再検討した。以下これまでの結果のアウトラインを述べる。

i) 温熱および非温熱刺激 (Fig. 1) : 寒冷馴化群 (4℃, 4週間) では褐色脂肪組織の膜リン脂質脂肪酸組成のうち飽和脂肪酸 (SA) と多不飽和脂肪酸 (PU) が増加し、単不飽和脂肪酸 (MU) は逆に半減した。脂肪酸1分子あたりの平均二重結合数である不飽和指数 (UI) は変化しなかったが、特に膜流動性の指標と考えられている PU/SA 値は増加した。一方、拘束負荷群では脂肪酸全体の飽和化を示す UI と PU/SA が共に増加した。ノルアドレナリン刺激時の *in vitro* 組織酸素消費量を指標とした褐色脂肪組織の熱産生能の変化と呼応し、寒冷馴化で減少し拘束負荷が増加したのは、様々な脂肪酸レベルの変化のうち DHA のみであった<sup>12)</sup>。

ii) 生後発達 (Fig. 2) : 日齢および14日齢の新

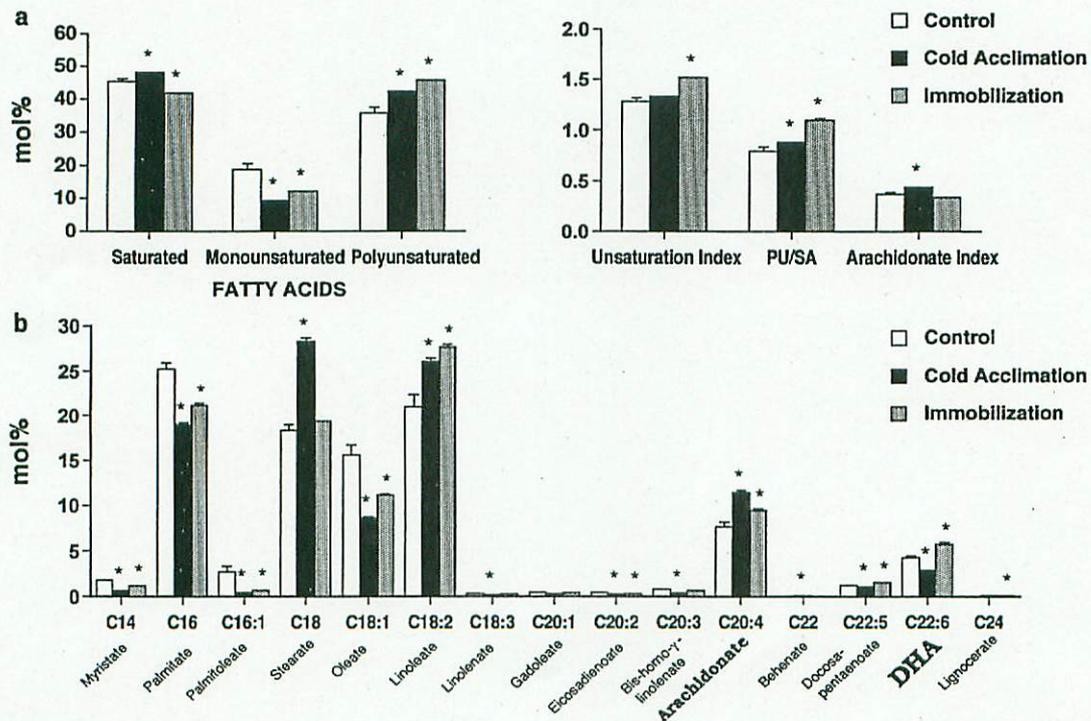


Fig. 1. Fatty acids of phospholipid in brown adipose tissue from cold acclimated, and repetitively immobilized rats. The state of saturation of phospholipid (a) and the composition of individual fatty acids (b). Values are means ± SE. \*p < 0.05 vs. control.

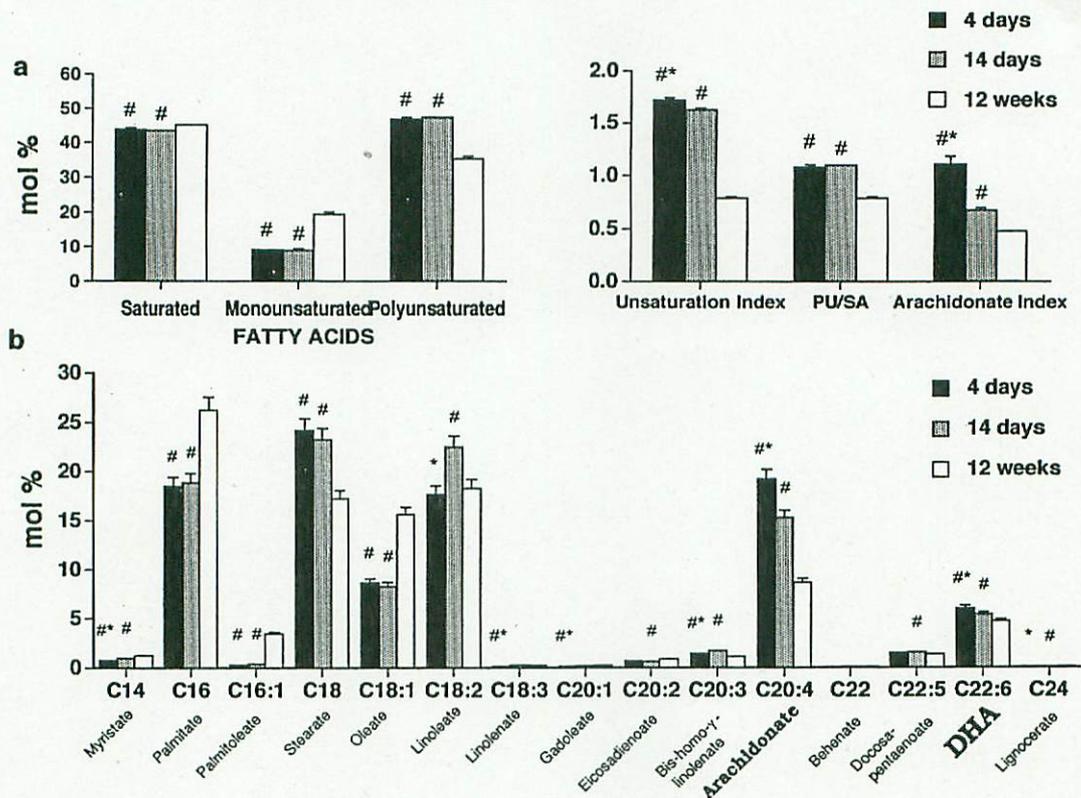


Fig. 2. Fatty acids of phospholipid in brown adipose tissue from neonatal and adult rats. #  $p < 0.05$  vs. 12 weeks. \*  $p < 0.05$  vs. 14 days. Legend as in Fig. 1.

生期ラットを12週の成熟ラットの対照群と比較すると、SAは成長に伴いごくわずかに増加し、MUは成熟ラットでほぼ倍増し、PUは成熟ラットで減少した。不飽和化の程度を示すUIとPU/SAの両値は熱産生反応の高い新生期で高く、成熟ラットで減少した。また、出生後DHAは一定レベルを維持したが、成長と共に低下する熱産生反応と呼応して著しく減少した脂肪酸が唯一アラキドン酸であった。

iii) DHA経口投与-4週間 (Fig. 3) : 4週間の食餌性DHA (ハリマ化成のDHA-95E経口投与) は体重や褐色脂肪組織重量並びにDNA含量を変化させなかった。リン脂質脂肪酸のうち顕著なアラキドン酸の減少はDHA増加に相殺されて、PUとUIは増加した。また、アラキドン酸とリノール酸のモル比であるアラキドン酸指数 (AI) はn-6系不飽和脂肪酸の炭素鎖の伸長と不飽和化を示すが、AIの減少からDHA投与がアラキドン酸の合成阻害や代謝促進をもたらしたと推測される。

褐色脂肪組織の *in vitro* 組織酸素消費量を調べると、組織DHAレベルの増加から予想された反応性の亢進は見られなかった。

iv) DHA経口投与-16週間 (Fig. 4) : 食餌性魚油の投与1週間で褐色脂肪組織のリン脂質DHAレベルが最大となるとの報告の一方で<sup>8)</sup>、食餌性DHAが個体や細胞機能に与える効果については投与期間がまちまちであり、約3ヶ月の投与が必要との報告もある<sup>13)</sup>。そこで、DHA投与期間を16週間として食餌性DHAの影響を再検討したところ、体重や褐色脂肪組織DNA含量は変化せず、組織重量が17%減少した。膜リン脂質脂肪酸組成ではパルミトオレイン酸とオレイン酸の減少によりMUが低下した。一方、4週間投与と同じく増加した脂肪酸がDHAのみである事が注目されたが、アラキドン酸の減少が4週間投与時以上であったため、PUは変化せず、AIは減少した。

本組織の *in vitro* 酸素消費量を見ると、組織DHA

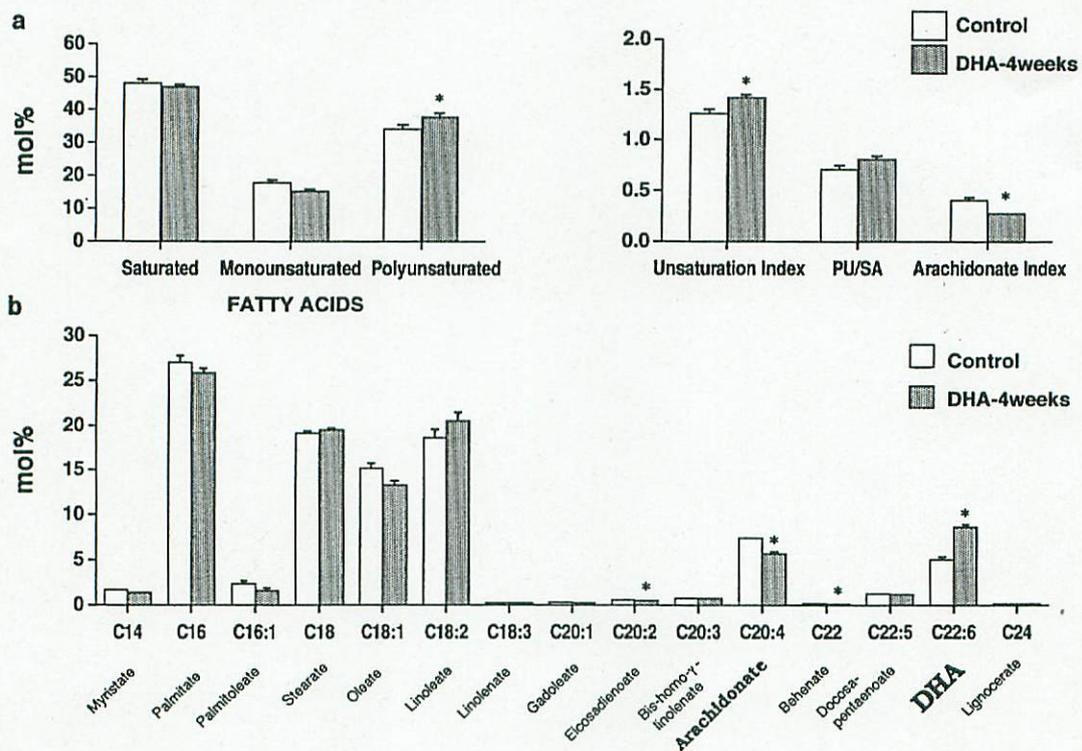


Fig. 3. Fatty acids of phospholipid in brown adipose tissue from rats fed purified DHA for 4 weeks. \*  $p < 0.05$  vs. control. Legend as in Fig. 1.

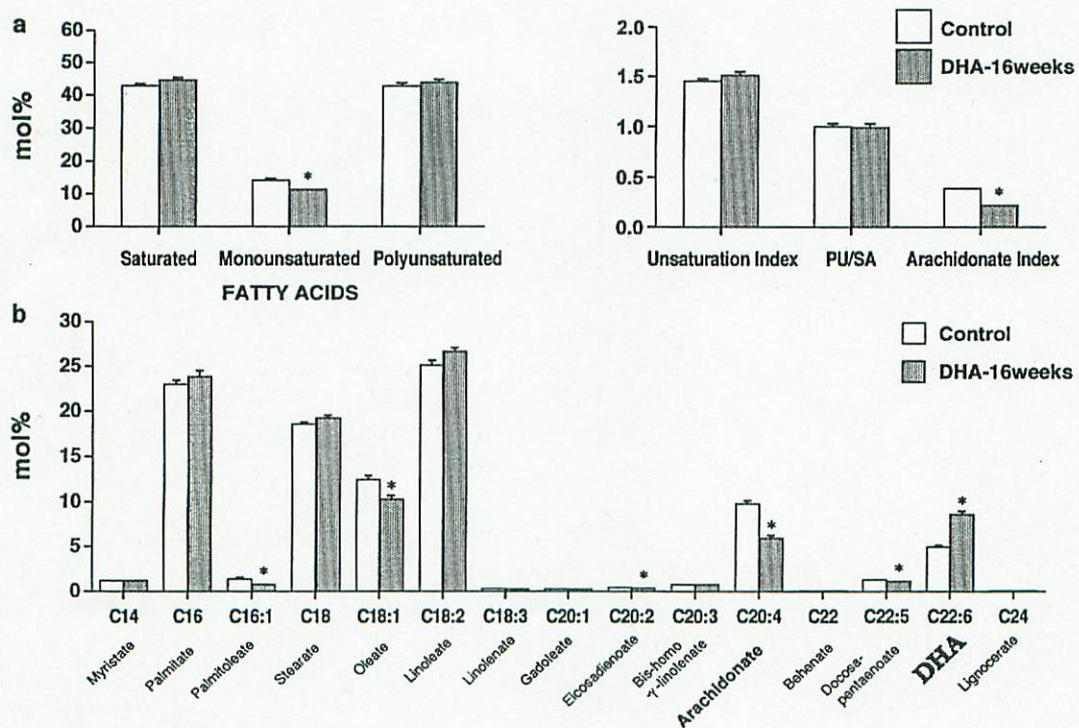


Fig. 4. Fatty acids of phospholipid in brown adipose tissue from rats fed purified DHA for 16 weeks. \*  $p < 0.05$  vs. control. Legend as in Fig. 1.

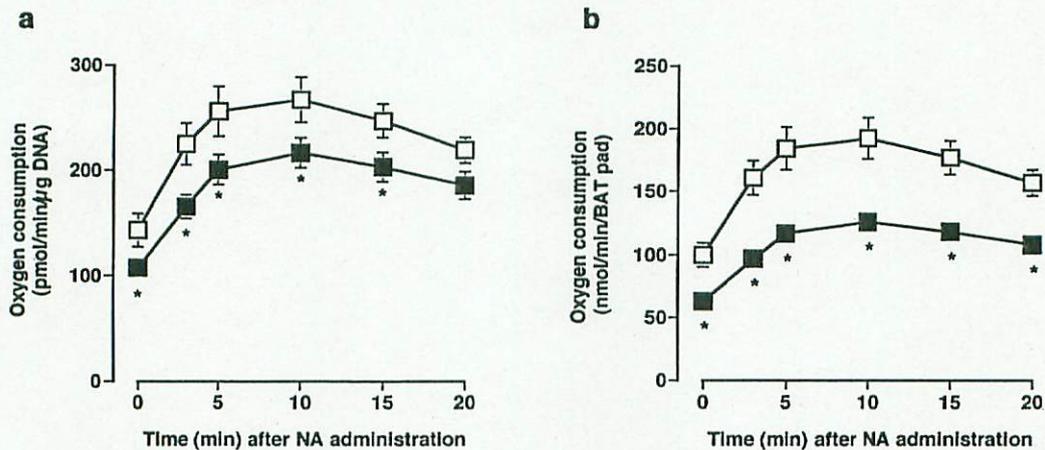


Fig. 5. Effect of dietary DHA for 16 weeks on *in vitro* oxygen consumption of brown adipose tissue. Legend as in Fig. 1.

レベルが高いにも関わらず、基礎時 (Time 0) 並びにノルアドレナリン刺激時の反応性は低下していた (Fig. 5)。

#### [褐色脂肪組織機能と膜リン脂質脂肪酸組成]

生化学的指標を見る限り、寒冷馴化ラットの褐色脂肪組織は高い代謝活性を示すとの報告が多くあるが<sup>14)</sup>、細胞や組織片を用いた *in vitro* 実験では、ノルアドレナリンやグルカゴン投与時の酸素消費量・脂肪分解能は対照群と同じかむしろ減少している<sup>1)</sup>。褐色脂肪細胞における  $\beta_3$  アドレナリン性反応の脱感作の原因については、アデニレートシクラーゼを活性化する G タンパク質の  $G_s\alpha$  減少と、cAMP を分解するホスホジエステラーゼ活性のわずかな増加が報告されているだけであり、cAMP アナログ投与の際に改善が見られない事から、この脱感作を十分に説明するものとはなっていない<sup>5)</sup>。寒冷馴化動物由来のミトコンドリアでは著しい呼吸亢進を保證する UCP 含量が増加している事から、寒冷馴化時の褐色脂肪細胞の熱産生能の低下の機序は、cAMP からミトコンドリアレベルまでの刺激伝達経路にあると推測される。

一方、血管内皮由来弛緩因子として知られる一酸化窒素とグアニレートシクラーゼ経路が、褐色脂肪組織の血流量調節の他に熱産生調節にも関与する可

能性を我々は既に報告し<sup>15)</sup>、また実際に褐色脂肪組織中の一酸化窒素合成酵素 mRNA の存在も確認されている<sup>16)</sup>。更に我々の最近の研究で、一酸化窒素合成阻害剤の慢性投与により褐色脂肪組織の *in vitro* 酸素消費量が抑制される事<sup>17)</sup>、それと同時にリン脂質脂肪酸組成が変化する事 (PU と UI の増加, SA, MU, AI の減少, DHA とアラキドン酸レベルは変化しない) を見出した<sup>18)</sup>。

このように褐色脂肪組織の *in vitro* 熱産生能の調節機序の本体を明らかにするにあたっては、各々の刺激シグナルのクロストークをも考慮して検討する必要があり、また、それぞれの情報伝達系の刺激・抑制により褐色脂肪組織膜リン脂質の変化が生じる事から、褐色脂肪組織や褐色脂肪細胞、更にはミトコンドリアレベルでの膜リン脂質脂肪酸組成の変化に注意を払う必要があると考えられる。

#### [おわりに]

以上概観したように、寒冷馴化、拘束ストレス負荷、並びに新生期という実験条件下での褐色脂肪組織の *in vitro* 熱産生能の増減と一致する変化を示したのは、n-3 系多不飽和脂肪酸 - DHA のみである事が注目される。一方、本組織の DHA レベルが高い DHA 投与群では明らかにこの熱産生能が抑制されていたが、興味深い事に他の群には見られないア

ラキドン酸レベルの低下が生じていた。

DHA 単独投与では褐色脂肪組織膜リン脂質脂肪酸組成の DHA レベルが高値を示したのみで、本組織の熱産生反応を亢進することができなかったが、我々の一連の実験で見られた褐色脂肪組織膜リン脂質の DHA 上昇の意義については、他の多不飽和脂肪酸、特にアラキドン酸の増加を伴う不飽和度の増大がある時に褐色脂肪組織熱産生の促進をもたらす可能性を考慮に入れて検討する事が必要である。褐色脂肪組織の機能、特に熱産生能におけるこれら膜リン脂質脂肪酸の役割を、DHA の作用機作を含めてさらに明らかにする事が今後の検討課題である。

#### 参考文献

- 1) Kuroshima A: Brown adipose tissue thermogenesis as physiological strategy for adaptation. *Jpn J Physiol* 1993; 43: 117-39
- 2) Boss O, Samec S, Paoloni-Giacobino A et al: Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett* 1997; 408: 39-42
- 3) Enerbäck S, Jacobsson A, Simpson EM et al: Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese. *Nature* 1997; 387: 90-4
- 4) Lowell BB, S-Susulic V, Hamann A et al: Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature* 1993; 366: 740-2
- 5) Cannon B, Bengtsson A, Dicker A et al: The role of adrenergic stimulation in regulation of heat production and recruitment of brown adipose tissue. In: *Thermal Balance in Health and Disease-Recent Basic Research and Clinical Progress*. Ed by Zeisberger E, Schönbaum E, Lomax P. Birkhäuser Verlag Basel, 1994, pp87-102
- 6) Williams DD, Platner WS: Cold-induced changes in fatty acids of the rat and hamster. *Am J Physiol* 1967; 212: 167-72
- 7) Ohno T, Ogawa K, Kuroshima A: Postnatal changes in fatty acids composition of brown adipose tissue. *Int J Biometeorol* 1992; 36: 30-5
- 8) Leray C, Andriamampandry M, Gutbier G et al: Incorporation of n-3 fatty acids into phospholipids of rat liver and white and brown adipose tissues: a time-course study during fish-oil feeding. *J Nutr Biochem* 1995; 6: 673-80
- 9) Sadurskis A, Dicker A, Cannon B et al: Polyunsaturated fatty acids recruit brown adipose tissue: increased UCP content and NST capacity. *Am J Physiol* 1995; 269: E351-60
- 10) Gudbjarnarson S, Doell B, Oskarsdotter G et al: Modification of cardiac phospho-lipids and catecholamine stress tolerance. In: *Tocopherol, Oxygen and Biomembranes*. Ed by Duve C, Hayasi O. Elsevier, North-Holland Biomedical Press, 1978, pp297-310
- 11) Hulbert AJ, Else PL: Evolution of mammalian endothermic metabolism: mitochondrial activity and cell composition. *Am J Physiol* 1989; 256: R63-9
- 12) Ohno T, Ohinata H, Ogawa K et al: Fatty acid profiles of phospholipids in brown adipose tissue from rats during cold acclimation and repetitive intermittent immobilization: with special reference to docosahexaenoic acid. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 265-70
- 13) Fryland L, Vaagenes H, Asiedu DK et al: Chronic administration of eicosa-pentaenoic acid and docosahexaenoic acid as ethyl esters reduced plasma cholesterol and changed the fatty acid composition in rat blood and organs. *Lipids* 1996; 31: 169-78
- 14) Trayhurn P, Milner RE: A commentary on the interpretation of in vitro biochemical measures of brown adipose tissue thermogenesis. *Can J Physiol Pharmacol* 1989; 67: 811-9
- 15) Kuroshima A, Nagashima T, Ohinata H: Involvement of nitric oxide in the regulation of brown adipose tissue: a thermogenic organ during cold acclimation. In: *Adaptation Biology and Medicine (vol. 1: Subcellular Basis)*. Ed by Sharma BK, Takeda N, Ganguly NK, Singal PK. Narosa Publishing House, London, 1997, pp 219-30
- 16) Nisoli E, Tonello C, Briscini L et al: Inducible nitric oxide synthase in rat brown adipocytes: implications for blood flow to brown adipose tissue. *Endocrinology* 1997; 138: 676-82
- 17) Saha SK, Ohinata H, Kuroshima A: Effects of acute and chronic inhibition of nitric oxide synthase on brown adipose tissue thermogenesis. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 375-82

18) Saha SK, Ohno T, Ohinata H et al: Effects of nitric oxide synthase inhibition on phospholipid fatty acid com-

position of brown adipose tissue. Jpn J Physiol 1997; 47: 477-80

### Abstract

#### Adaptive Changes in Fatty Acids Profiles of Thermogenic Tissue Brown Fat.

Hiroshi Ohinata, Tomie Ohno \*, Saha Shyamal Kumar, and Akihiro Kuroshima

Department of Physiology I, Asahikawa Medical College

\* Laboratory of Domestic Science, Asahikawa Campus, Hokkaido University of Education

Asahikawa 078-8510, Japan,

Brown adipose tissue (BAT) is a major site of nonshivering thermogenesis during cold acclimation, repetitive immobilization stress, and the neonatal period. Increased unsaturation of fatty acids of phospholipid in BAT has been shown to be closely associated with an enhanced function of BAT. Cold acclimation and immobilization improve the cold tolerance of rats through an enhanced *in vivo* BAT thermogenesis mediated by sympathetic noradrenaline with a simultaneous increase in unsaturation of phospholipid fatty acids. However, *in vitro* BAT thermogenic responses were rather suppressed during cold acclimation but increased during immobilization. We found that n-3 polyunsaturated fatty acid, docosahexaenoic acid (DHA) in BAT phospholipid increased in the immobilization, but decreased in cold acclimation. During ontogeny, the DHA levels decreased concomitantly with a decrease in BAT thermogenic activity. Prolonged oral administration of DHA increased the DHA level but decreased arachidonic acid, resulting in no changes in unsaturation of fatty acids. *In vitro* thermogenic response of such BAT remained unchanged or decreased. These findings suggest that DHA in the BAT membrane environment is associated with the regulation of BAT thermogenic function when it is accompanied by increased unsaturation of fatty acids as a whole, especially an increase in arachidonic acid.

**Key Words :** Brown Adipose Tissue, Fatty Acid Composition, Docosahexaenoic Acid