

116

非ふるえ熱産生発現の多重性細胞内調節機序

—— グルカゴン及び β_3 アゴニストの役割

(研究課題番号：03670072)

平成4年度科学研究費補助金（一般研究C）

研 究 成 果 報 告 書

平 成 5 年 3 月

研究代表者 八 幡 剛 浩

(旭川医科大学医学部 講師)

は し が き

哺乳類において褐色脂肪組織は代謝性寒冷馴化の中心である非ふるえ熱産生の主要な発現部位であるが、褐色脂肪組織の機能は過食、拘束ストレスなどでも亢進することが知られており、この組織は寒冷環境のみならず、幅広い環境条件下で生体機能の維持のために働いていることが考えられる。本研究では、この組織の熱産生の調節機構を明らかにするために、種々環境に順応したラットで、非ふるえ熱産生の主要な発現因子であるノルアドレナリン、グルカゴン及び β_3 アドレナージックアゴニストであるBRL37344に対する褐色脂肪組織の反応を比較検討した。その結果、グルカゴンの作用の一部はIP $_3$ を介して発現される事、ノルアドレナリンは β_3 リセプターに作用する模様である事、更に寒冷馴化時には褐色脂肪細胞自体の機能は抑制されている事などが示され今後の研究の為の手がかりが得られた。

研究組織

研究代表者： 八幡剛浩 （旭川医科大学医学部講師）

研究経費

平成3年度	1, 600	千円
平成4年度	400	千円
計	2, 000	千円

研究発表

(1) 学会誌

Kikuchi, K., Okano, S., Nozu, T., Yahata, T. and Kuroshima, A.: Effects of chronic administration of noradrenaline and glucagon on in vitro brown adipose tissue thermogenesis. Jpn. J. Physiol. 42: 165-170, 1992.

(2) 口頭発表

1) Yahata, T., Okano, S., Nozu, T., Kikuchi, K. and Kuroshima, A.: Functional changes in brown adipose tissue under various conditions. The 4th International Symposium on High-Altitude Medical Science, Matsumoto, Japan, Aug. 30 - Sept. 1, 1991.

2) 菊池計・八幡剛浩・黒島晨汎：反復寒冷曝露ラットの褐色脂肪組織 (BAT) in vitro 熱産生と脂肪分解：第70回日本生理学会大会、1993年4月3日 (発表予定)。

(3) 出版物

Yahata, T., Okano, S., Nozu, T., Kikuchi, K. and Kuroshima, A.: Functional changes in brown adipose tissue under various conditions. In "High Altitude Medicine (ed. by Ueda, G., Reeves, J.T. and Sekiguchi, M.)", pp.492-496, Shinshu University Press, 1992.2.1.

研究成果

1. はじめに

寒冷馴化時、過食時、ストレス負荷時に亢進する非ふるえ熱産生 (NST) の主要発現部位である褐色脂肪組織 (BAT) の機能はノルアドレナリン (NA) に加え甲状腺ホルモン、副腎皮質ホルモン、腓ホルモンなどにより多因子的に調節されている (Kuroshima et al., 1978, 1984; Doi and Kuroshima, 1984; Yahata et al., 1981; Howland and Bond, 1987; Billington et al., 1991)。中でグルカゴン (G) は NA に匹敵する調節因子であることが示されてきている (Kuroshima et al., 1978; Yahata et al., 1981, 1989)。しかし BAT 細胞の NA への反応性は寒冷馴化によって亢進するのに対し、G へのそれは温暖馴化時に既に高く寒冷馴化後も変化しないこと (Kuroshima and Yahata, 1979)、また出生直後のラットの BAT は NA、G 双方に高い反応性を示すが、G に対する反応性は NA より早い時期に低下する (Yahata et al., 1989) ところから、両因子の BAT への作用機序は異なっているものと考えられる。NA、G 共に cAMP をセカンドメッセンジャーとする経路を介して作用を発揮することが知られているが、ラット肝細胞で G の主作用経路はイノシトールフォスフェイト - Ca^{2+} を介するものであることが示されており (Petersen and Bear, 1986)、BAT においても動物の馴化状態によって NA、G による両経路活性化の割合が異なることが考えられる。また、BAT には特異的に β_3 アドレナージックリセプターが存在することが示唆されている (Arch et al., 1984; Muzzin et al., 1988) が、この経路を介する寒冷馴化の発現状況は不明である。本研究は種々条件下のラット BAT の NA、G 及び β_3 アドレナージックアゴニストに対する反応状況を調べることにより、この組織

のNST発現機序を明らかにする為に行われた。

2. 研究方法

1) 実験動物および馴化条件

実験は主に12週齢の成体Wistarラットで、一部は2週齢の新生仔について行った。

8週齢のラットを3群に分け、それぞれ25℃、5℃および1日6時間寒冷(5℃)曝露下で4週間飼育し、温暖対照群(WC)、寒冷馴化群(CA)および反復寒冷曝露群(ICE)とした。更に寒冷下で44代以上繁殖を繰り返した歴代寒冷馴化ラット(CA-SG)、および25℃へ戻して5代以上経過した脱馴化温暖対照ラット(WC-DA)も用いた。

2) 非ふるえ熱産生能の測定

In vivoでの非ふるえ熱産生能は、解放式ガスモニター(NEC-San-ei, Tokyo)で測定したNA(40 μg/100g, 腹腔内投与)による酸素消費量の増加から判定した(Kuroshima et al., 1978)。BATのin vitro熱産生能は、2時間プレインキュベーションを行ったBAT細片について、NA、Gおよびβ₃アドレナージックアゴニストであるBRL 37344(BRL)による酸素消費量の変化をClark型酸素電極(Rank Brothers, Cambridge)で測定することにより判定した(Yahata et al., 1989; 添付論文1, 2)。また、BATの熱産生能の指標であるミトコンドリアへのGDP結合の度合いを測定した(Bryant et al., 1983)。

3) BAT熱産生能へのNAおよびGの長期投与の効果

イ. 持続投与実験

N A、 Gとも背部皮下に埋め込んだ浸透圧ミニポンプ (ALZETT model 2002, ALZA Corp., Palo Alto, USA) により2週間 infusion を行った。N A群については 0.02 M Tritonおよび 0.1M ascorbic acid 含有 saline に溶解した noradrenaline bitartrate を $12.5 \mu\text{g}/0.5 \mu\text{l/hr}$ の速度で注入した。Gは 0.001N HCl saline に溶解し、 $3.8 \mu\text{g}/0.5 \mu\text{l/hr}$ の速度で注入した。対照群には、それぞれの溶媒を同量注入した。

ロ. 反復投与実験

N A、 Gとも持続投与実験に用いた溶媒に溶解させた。N A群には $40 \mu\text{g}/100\text{g bw}$ を、またG群には $50 \mu\text{g}/100\text{g bw}$ を1日2回背部皮下に2ないし4週間注射した。対照群には同量の溶媒を注射した。B A Tの熱産生能の測定は最終投与の翌日行った。

4) B A Tの in vitro 脂肪分解能の測定

酸素消費量測定の法に従って準備したB A Tサンプルを酸素電極の測定チャンバー内で30分間安定化させた後、saline, N AまたはGを投与し、30分間酸素消費量を測定した後の測定メジウム中の遊離脂肪酸量を測定した。

5) 甲状腺機能状態とB A T機能

甲状腺機能状態の差がN S T能に及ぼす影響を調べるため次の何れかの方法で4週間飼育したラットB A Tの I s o - p r e n a l i n e、 GおよびB R Lに対する反応性を調べた。1. 粉末標準食摂食 + 水道水飲水 (対照群)。2. 粉末標準食摂食 + 0.04 % methimazole 水飲水 (甲状腺機能低下群)。3. 0.03 % 甲状腺粉末添加粉末食摂食 + 水道水飲水 (甲状腺機能亢進群)。

3. 研究結果

1) 歴代寒冷馴化ラット (C A - S G) の *in vivo* 非ふるえ熱産生能

C A - S G の B A T は、脱馴化温暖対照ラット (W C - D A) のものより大きく、また B A T の除脂肪乾燥重量 (F f d m) および水分の割合は有意に大きく、逆に脂肪含量は低下していた (表 1、雄)。安静時酸素消費量は C A - S G, W C - D A で 903 ± 25.9 および 914 ± 33.5 ml/kg^{0.75}/hr と差がなかった。N A 及び saline 投与時の酸素消費量の増加の程度は、W C - D A に比べ C A - S G ではそれぞれ約 3 倍と 2.5 倍高かった (図 1、2、雄)。N A による増加と saline による増加との差で求めた、N A による実質最大増加量は C A - S G では約 1,400 ml/kg^{0.75}/hr、W C - A D では約 350 ml/kg^{0.75}/hr であり、前者で約 4 倍高かった (図 3、雄)。

C A - S G は重量及び組成の点で C A と類似の B A T を持ちまた同程度の N S T 能を有しているが、安静時代謝は C A (Yahata et al., 1989) より低いこと、また密な体毛を持ちさらに尾が短くなっていることから恐らく熱放散の抑制により C A より低い熱産生で寒冷に順応する様になっているものと考えられる。C A - S G から 3 代脱馴化させたラットはまだ W C より高い N S T 能を示すことが報告されている (Moriya et al., 1985) が、5 代脱馴化させると N S T 能は W C のレベルまで戻っていることが示された。

2) 非ふるえ熱産生能の雌雄差

馴化状態の如何に関わらず雌の体重は雄より小さく、逆に B A T 重量および F f d m の割合は有意に大きかった (表 1) 。 C A - S G では saline または N A による *in vivo*

での酸素消費量の変化に雌雄で差がなかった（図1）。WC-D Aでは saline およびNA投与時の酸素消費量の増加は雌の方が大きかった（図2）が、NAによる実質的な酸素消費の増加量はCA-S Gと同様雌雄で全く差がなかった（図3）。また、NA、G何れに対するBATの *in vitro* 熱産生反応の程度も雌と雄で全く同じであり、更に寒冷馴化により雌雄とも反応性が低下していた（雌：図4；雄：図6、7、表2）。

雌の *in vivo* NST能は雄より低いこと（Doi and Kuroshima, 1982）、またエストロゲンが寒冷馴化ラットでBAT機能を抑制すること（Puerta et al., 1990）が報告されているが、本研究でのCA-S GおよびWC-D AではNST能に雌雄差はなかった。またBATのFfdmも雌で高く、更に *in vitro* での熱産生反応にはCA-S G, WC-D AのみならずWC, CAでも雌雄差がみられないので、BAT機能の雌雄差については更に検討が必要と考えられる。

3) 寒冷馴化の状態によるBAT *in vitro* 熱産生能の差と脂肪分解能

イ. BATミトコンドリアのGDP結合能

WC, CAおよびICEで非ふるえ熱産生能の指標の1つであるBATミトコンドリアのGDP結合能を単位ミトコンドリア蛋白当たりで比較すると、安静状態ではCAはWCと差がないのに対し、ICEでは2倍高かった。安静状態から寒冷へ1時間曝露したときのGDP結合能はWCとICEでは約2倍、CAでは5倍弱上昇しており、結合能の大きさはWC < ICE < CAであった。また寒冷飼育下でのCAのGDP結合能は安静時の1.3倍に過ぎなかった。しかし、CAではBATの著しい増殖があるため、体内の全BATのGDP結合能を比較すると、安静時でWC < ICE = CAであ

り、寒冷曝露時には $WC < ICE < CA$ であった。寒冷飼育下での結合能はやはり急性寒冷曝露時の約4分の1と有意に小さかった(表3)。

ロ. B A T の *in vitro* 熱産生と脂肪分解

B A T の基礎酸素消費量は C A, I C E とともに W C より低かった。また *in vivo* での N S T 能の大幅な亢進にも関わらず、C A の *in vitro* での単位組織重量当たりの熱産生反応は W C より著しく小さかった。I C E では W C とほぼ同程度であった(表2)。一方、N A および G による実質 F F A 放出量は $CA < ICE$ であり両群とも W C より有意に少なかった(表2)。各サンプルの F F A 放出量と酸素消費量の増加の関係を見ると、W C では F F A 放出は酸素消費に関係なく高く、C A では酸素消費と F F A 放出には負の相関々係がみられた。他方 I C E では F F A 放出と酸素消費量の増加には正の相関々係がみられた(図5)。

ハ. C A での低反応性の原因の検討

D B c A M P に対する反応は W C, C A, I C E の何れでも全く N A へのものと同じであった(図6、添付論文1)。また B R L に対する反応も N A のものと同じであり(図7)、更にパルミチン酸、ピルビン酸も C A の反応を亢進させなかった(図8)。

C A は高い N S T 能を持ち、I C E はより少ないエネルギー消費で C A と同等の N S T 能を獲得している(Yahata and Kuroshima, 1989)。これら両群が高い N S T 能を有することは本研究の寒冷曝露時の B A T ミトコンドリアの G D P 結合能の結果からも推測される。しかし *in vivo* での結果からの予測に反し *in vitro* での結果は C A で熱産生反応が低い

ことを示しており、更に脂肪分解と熱産生能の関係も逆になっていることからC AとI C EではB A Tの調節機序に差があることが考えられる。脂肪酸及びピルビン酸の添加もC Aの熱産生反応を起こさないので、測定操作中の細胞内のエネルギー基質の枯渇が原因とは考えにくい。またサイクリックA M Pでも機能が亢進しないことから、セカンドメッセンジャー以降のシグナル伝達系に抑制が掛かっているか、サイクリックA M P以外の系の関与が大きくなっているものと思われる。

4) グルカゴン及びN A長期投与のB A T熱産生への影響

イ. グルカゴン

Gを2週間に亘り持続的に投与すると、B A Tの重量には差がないがF f d mの割合が増加した。また、B A Tの基礎酸素消費が亢進しており更にGに対する反応性の亢進が見られた。一方、1日2回4週間に亘って反復投与するとB A T重量、F f d mともに著しく増加した。しかしこの群ではB A Tの代謝に差はみられなかった(表4、添付論文2)。

ロ. N A

N Aの2週間持続投与により、B A T重量、F f d mともに増大した。B A Tの代謝については、基礎酸素消費、N A及びGに対する反応性ともに低下した。他方、1日2回反復投与の場合には、2週間でも4週間でも持続投与同様B A T重量の増大が見られるのに、B A Tの熱産生反応は低下していなかった(表5、添付論文2)。

N A、G長期投与は *in vivo* でN S Tを亢進させる(LeBlanc and Pouliot, 1964; Yahata et al., 1981)。しかし本研究の結果は、N Aの場合投与方法によってB A Tの機

能に差が生ずることを示している。即ち、N Aが持続的に作用するとB A Tの機能は抑制されるが、反復的作用ではこれが見られない。N Aを長時間作用させた分離B A T細胞でも熱産生能が低下すること(Waldbillig and Desautels, 1992)、更に本研究で見られたように寒冷飼育環境下でのC AのB A TミトコンドリアG D P結合能が急性寒冷曝露時のものより低いことからN A持続作用時にB A T機能が抑制されることが示唆される。N A持続作用時にはB A Tのオーバーワークを防ぐためにレセプターレベル及び/又はそれ以降のレベルでのダウンレギュレーションが起きている(Kurahashi and Kuroshima, 1981; Granneman et al., 1985)ものと考えられる。

5) 新生仔B A Tの熱産生反応

W CとC A-S Gの生後15日齢の新生仔を比較してみると、後者のB A Tの方が大きく基礎酸素消費も高かった。この時期のB A Tの熱産生能は成体より高くW CではN A、B R Lに対して基礎酸素消費の約3倍の増加を示した。Gに対しては両者の約2分の1の反応がみられた。C A-S GではC A程ではないが、やはり何れに対する反応性もW Cより低くなっていた(図9)。

W Cの生後2日齢と15日齢の新生仔B A Tでイノシトールトリフォスフェート(I P₃)の効果を見ると、2日齢では用量に応じて酸素消費が増加したが、15日齢ではI P₃の効果は見られなかった(図10)。

新生ラットは成体より高いN S T能を有している。新生期の初期にはN A、Gともに高い熱産生作用を示すが、中期以降Gのそれは低下すること、更に新生仔期を通してGはB A TのサイクリックA M Pレベルを上昇させないことが示されており(Yahata et al., 1989)、この時期のGの作用にはサ

イクリックAMPルート以外の経路が重要な役割を果たしていることが考えられる。事実本研究の結果は新生仔期にはGが、一部はIP₃を介する経路を通してその作用を増強させていることを示唆している。

6) 甲状腺機能状態とBATの熱産生能

甲状腺機能低下ラット(Hypo T)は対照ラットに比べ成長が抑制され、体温が低く、摂食量も減少していた。甲状腺機能亢進ラット(Hyper T)では成長、摂食量には差がなかったが、体温は高くなっていた(表6)。

β アドレナージックアゴニストのイソプレナリン(ISO)、GおよびBRLによるBATの最大熱産生を見ると、Hypo TでGに対する反応性が有意に低下していた。ISO、BRLに対する反応性も低下の傾向がみられた。いっぽう、Hyper Tではどの因子でも対照群と差がなかった。またこれら3因子の効果には何れの群でも差がなかった(図11)。

用量反応関係を見ると、コントロールとHyper Tでは全て0.01 μ Mで最大反応がみられたがHypo Tではどの因子の反応曲線も右にシフトし、最大反応がみられる濃度はG, BRL, ISOで各々0.1, 1及び10Mとなっていた(図12)。また50%効果濃度(EC₅₀)はHypo TのISOとBRLで有意に増加していた(表7)。

甲状腺ホルモンはBAT機能の維持に許容的に働くことが知られているが、さらにBAT細胞内でのT₄からT₃への転換がBAT機能を発現させるのに必要であることが示され(Bianco and Silva, 1987)、このホルモンの重要性が再認識されている。本研究の結果もHypo TではBATの最大熱産生能、刺激因子への感受性とも低下しておりBATの熱産生に果たす甲状腺ホルモンの重要性を示している。予測に反しHyper TではBAT機能の亢進がみられなかったが、

これは H y p e r T での全身的な代謝亢進による熱産生上昇の為と考えられる。H y p o T での最大熱産生反応が G に対してのみ低下することは甲状腺摘出ラットの結果 (Yahata and Kuroshima, 1982) と一致している。また本研究での結果は I S O と B R L の反応が全く同じであり、I S O と B R L が同じルートを介して作用することを示唆している。一方、今回の H y p o T でのアドレナージックアゴニストに対する反応性は、I S O、B R L とも最大反応が低下し、また E C₅₀ は I S O でのみ増加し B R L では変化がないという分離細胞での我々の以前の結果 (Ilyés et al., 1991) と相違しているが、B A T の場合細胞分離で得られる細胞が必ずしも B A T を代表しないことが示唆されており (Saggerson et al., 1988) 注意が必要に思われる。

4. 要 約

- 1) 種々環境条件下で飼育されたラットで *in vivo* および B A T 細片を用いて *in vitro* で、ノルアドレナリン (N A)、イソプレナリン (I S O)、グルカゴン (G) 及び β_3 アドレナージックアゴニストである B R L 3 7 3 4 4 (B R L) に対する反応を比較検討し以下の結果を得た。
- 2) 歴代寒冷馴化ラット (C A - S G) の *in vivo* N S T 能は寒冷馴化ラット (C A) と同程度であったが、安静時代謝が低く、熱放散の抑制機構改善を介して少ないエネルギー代謝の元に寒冷に順応していることが示唆された。また、C A - S G から 5 代脱馴化させたラット (W C - D A) の N S T 能は温暖馴化ラット (W C) のものと同じであった。
- 3) 雌ラットの N S T 能は *in vivo* でも *in vitro* でも雄と差がなかった。
- 3') C A の B A T ミトコンドリアの G D P 結合能は、安静時には W C と差が無かったが、急性寒冷曝露時には著しく高かった。又、飼育環境下では安静時より僅かに高いだけであった。一方、反復寒冷曝露ラット (I C E) では、安静時、急性寒冷曝露時共 W C より高かった。
- 4) *in vivo* の反応と異なり B A T の *in vitro* 熱産生反応は

- NA、G、BRLの何れに対してもCAで抑制された。この抑制はセカンドメッセンジャー以降の情報伝達系に起きていることが推察された。一方反復寒冷曝露ラット（ICE）ではWCと差がなかった。また脂肪分解と熱産生量との関係は馴化状態により差があり、ICEでのみ正の相関が見られた。
- 5) Gの持続投与はBATのGへの反応性を亢進した。一方NAの持続投与はBAT熱産生を抑制した。反復投与ではどちらの因子でも差がなかった。この結果からCAで見られた熱産生能の低下が、NAの持続的作用に対してオーバーワークを防ぐ為のダウンレギュレーションによることが示唆された。
- 6) CA-SGの新生仔BATの熱産生能はWCのものより低かった。また、WC同様新生仔期中期にはGの熱産生作用はNAより低かった。WCでIP₃は新生仔期の初期にはBATの熱産生を促進したが、中期には効果を示さず、Gの作用が一部はIP₃を介することが示唆された。
- 7) 甲状腺機能低下ラット（Hypot）ではBATのGに対する最大熱産生反応が抑制された。またイソプレナリン及びBRLに対する感受性が減少し、BAT機能の発現に甲状腺ホルモンが重要であることが示された。
- 8) これらの結果から、GはNAと異なるルートを介してNAと相補的にBATの熱産生発現に関与していること、寒冷馴化時にはBAT細胞自体の熱産生能は抑制されていること、また、NAとBRLの作用機構は同一であること、即ちNAもβ₃リセプターを介して作用することが推測される。

文 献

Arch, J.R.S., A.T. Ainsworth, M.A. Cawthorne, V. Piercy, M.V. Sennitt, V.E. Thody, C. Wilson and S. Wilson (1984)

- Atypical β -adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs. *Nature* 309: 163-165.
- Bianco, A.C. and J.E. Silva (1987)
Intracellular conversion of thyroxine to triiodothyronine is required for optimal thermogenic function of brown adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 79: 295-300.
- Billington, C.J., J.E. Briggs, J.G. Link and A.S. Levine (1991)
Glucagon in physiological concentrations stimulates brown fat thermogenesis in vivo. *Am. J. Physiol.* 261: R501-R507.
- Bryant, K.R., N.J. Rothwell and M.J. Stock (1983)
Identification of two mitochondrial GDP-binding sites in rat brown adipose tissue. *Biosci. Rep.* 3: 589-598.
- Doi, K. and A. Kuroshima (1982)
Sexual difference in thermoregulatory ability of rats exposed to cold and heat. *J. therm. Biol.* 7: 99-105.
- Doi, K. and A. Kuroshima (1984)
Economy of hormonal requirement for metabolic temperature acclimation. *J. therm. Biol.* 9: 87-91.
- Granneman, J.G., R.G. Mackenzie, S.J. Fluharty, M.J. Zigmund and E.M. Stricker (1985)
Neural control of adenylate cyclase responsiveness in brown adipose tissue. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 233: 163-167.
- Howland, R.J. and K.D. Bond (1987)
Modulation by insulin and glucagon of noradrenaline-induced activation of isolated brown adipocytes from rat. *Eur. J. Biochem.* 169: 155-166.

- Ilyés, I., T. Yahata and M.J. Stock (1991)
Brown adipose tissue cell respiration in hypo- and hyperthyroidism after stimulation with selective and non selective β -adrenergic agonists. Acta Biol. Hung. 42: 345-355.
- Kurahashi, M. and A. Kuroshima (1981)
Characteristics of β -adrenergic receptors in brown adipocytes of temperature-acclimated rats. Biomed. Res. 2: 126-131.
- Kuroshima, A., K. Doi and T. Ohno (1978)
Role of glucagon in metabolic acclimation to cold and heat. Life Sci. 23: 1405-1410.
- Kuroshima, A., T. Yahata, Y. Habara and T. Ohno (1984)
Hormonal regulation of brown adipose tissue with special reference to the participation of endocrine pancreas. J. therm. Biol. 9: 81-85.
- Kuroshima, A. and T. Yahata (1979)
Thermogenic responses of brown adipocytes to noradrenaline and glucagon in heat-acclimated and cold-acclimated rats. Jpn. J. Physiol. 29: 683-690.
- LeBlanc, J. and M. Pouliot (1964)
Importance of noradrenaline in cold acclimation. Am. J. Physiol. 207: 853-856.
- Muzzin, P., J. Seydoux, J.-P. Giacobino, J.-C. Venter and C. Fraser (1988)
Discrepancy between the affinities of binding and action of the novel β -adrenergic agonist BRL 37344 in rat brown adipose tissue. Biochem. Biophys. Res. Commun. 156: 375-382.

- Petersen, O.H. and C. Bear (1986)
Two glucagon transducing systems. *Nature* 523: 18.
- Puerta, M.L., M.P. Nava, M. Abelenda and A. Fernandez
(1990)
Inactivation of brown adipose tissue thermogenesis by
oestradiol treatment in cold-acclimated rats.
Pflugers Arch. 416: 659-662.
- Saggerson, E.D., T.W.J. McAllister and H.S. Baht (1988)
Biochem. J. 251: 701-709.
- Waldbillig, D. and M. Desautels (1992)
Characterization of norepinephrine-stimulated protein
synthesis in rat brown adipocytes. *Am. J. Physiol.*
263: R1003-R1012.
- Yahata, T. and A. Kuroshima (1982)
Influence of endocrine and chemical factors on gluc-
agon-induced thermogenesis in brown adipocytes. *Jpn.*
J. Physiol. 32: 303-307.
- Yahata, T. and A. Kuroshima (1989)
Metabolic cold acclimation after repetitive inter-
mittent cold exposure in rat. *Jpn. J. Physiol.* 39:
215-228.
- Yahata, T., T. Ohno and A. Kuroshima (1981)
Improved cold tolerance in glucagon-treated rats.
Life Sci. 28: 2603-2610.
- Yahata, T., T. Ohno and A. Kuroshima (1989)
Role of glucagon on brown adipose tissue activity.
In *Thermal Physiology* (ed. by J.B. Mercer), pp. 247-
252, Elsevier Sci. Publish., Amsterdam.

表1 歴代寒冷馴化及び脱馴化ラットの体重と褐色脂肪組織の雌雄差

	Body	Weight	B A T	Composition (%)	
	weight			Ffdm	Lipids
	(g)	mg/100g bw			
C A - S G					
Male (5)	366 ± 13.2	156.0 ± 6.35	14.9 ± 0.25	34.0 ± 1.32	51.1 ± 1.08
Female (5)	245 ± 9.1	155.8 ± 15.93	18.0 ± 0.41	24.1 ± 1.58	57.8 ± 1.23
p	< 0.001	NS	< 0.001	< 0.01	< 0.01
W C - D A					
Male (5)	404 ± 5.6	102.5 ± 2.28	7.1 ± 0.11	67.3 ± 0.32	25.5 ± 0.40
Female (5)	246 ± 4.4	109.4 ± 8.67	7.8 ± 0.27	65.9 ± 1.06	26.3 ± 0.83
p	< 0.001	NS	< 0.05	NS	NS

平均 ± 標準誤差。() 内数字は例数を示す。BAT: 褐色脂肪組織。CA-SG: 歴代寒冷馴化ラット。WC-DA: 脱馴化温暖対照ラット。BAT: 褐色脂肪組織。Ffdm: 除脂肪乾燥重量。

表 2 寒冷馴化の褐色脂肪組織熱産生能及び脂肪分解能への効果

	Body wt (g)	BAT wt (mg/100gbw)	Oxygen consumption (pmol O ₂ /mg BAT/min)			FFA release (μ Eq/g BAT/hr)		
			Increase			Saline	NA	G
			Basal	NA	G			
W C (10)	310 ± 2.85	65.6 ± 4.18	283 ± 10.7	877 ± 35.4	764 ± 25.4	2.7 ± 0.28	13.0 ± 0.28	12.7 ± 0.40
C A (10)	260 ± 4.59	200.9 ± 9.81	185 ± 9.7	86 ± 7.9	52 ± 7.8	6.4 ± 0.30	7.6 ± 0.23	8.4 ± 0.37
p vs WC	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	NS	< 0.001	< 0.001	< 0.001
ICE (10)	278 ± 9.66	167.2 ± 10.63	179 ± 12.6	588 ± 67.4	623 ± 82.1	4.8 ± 0.45	8.6 ± 0.16	8.7 ± 0.32
p vs WC	< 0.01	< 0.001	< 0.001	< 0.01	NS	< 0.001	< 0.001	< 0.001
vs CA	NS	< 0.05	NS	< 0.001	< 0.001	< 0.01	< 0.01	NS

凡例は表 1 に同じ。FFA：遊離脂肪酸、安静 30 分 + 刺激 30 分の合計。NA：ノルアドレナリン。G：グルカゴン。WC：温暖対照群。CA：寒冷馴化群。ICE：反復寒冷曝露群。

表3 寒冷馴化の褐色脂肪組織ミトコンドリアGDP結合能への効果

	Body weight (g)	BAT weight (mg/100gbw)	Mitochondria prot. (mg)	GDP bound pmol/mg mitochondria prot.	nmol/total BAT
W C					
Resting	310	318.2	0.8	46.0	33.9
(12)	± 9.3	± 22.19	± 0.12	± 2.56	± 4.26
Cold-exposed	298	389.5	1.4	106.8	147.3
(8)	± 5.5	± 33.57	± 0.13	± 7.78	± 16.69
p vs Rest.	NS	NS	< 0.01	< 0.001	< 0.001
C A					
Resting	261	1,087.1	3.8	52.0	195.8
(7)	± 7.4	± 44.18	± 0.19	± 2.88	± 4.97
p vs WC	< 0.001	< 0.001	< 0.001	NS	< 0.001
Cold-exposed	248	1,205.8	5.5	240.1	1,326.0
(8)	± 5.2	± 42.75	± 0.21	± 4.29	± 41.64
p vs WC	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
In cold	276	1,347.5	4.4	67.8	299.2
(8)	± 5.49	± 87.75	± 0.21	± 1.14	± 12.19
p vs CA-Rest.	NS	< 0.05	NS	< 0.001	< 0.001
I C E					
Resting	259	821.4	2.5	90.9	225.8
(7)	± 10.9	± 85.31	± 0.26	± 10.11	± 26.46
p vs WC	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
vs CA	NS	< 0.05	< 0.001	< 0.01	NS
Cold-exposed	281	866.8	3.4	204.6	681.9
(5)	± 5.7	± 38.06	± 0.32	± 9.04	± 65.40
p vs WC-CE	NS	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
vs CA-CE	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

凡例は表1、2に同じ。GDP: guanosine diphosphate。mitochondria prot.: mitochondria protein。CE: cold-exposed。

表4 グルカゴン長期投与の褐色脂肪組織熱産生能への効果

	Body weight (g)	B A T weight (mg/100gbw)	Ffdm (%)	Oxygen consumption (pmol O ₂ /mg BAT/min)		
				Basal	Increase N A	Glucagon
Exp. I						
Control (10)	251 ± 6.3	64.9 ± 3.50	7.4 ± 0.16	212 ± 13.0	914 ± 61.8	883 ± 42.2
Glucagon-infused (8)	246 ± 5.0	58.6 ± 4.5	8.1 ± 0.25	347 ± 46.5	1,187 ± 129.4	1,221 ± 133.5
p	NS	NS	< 0.05	< 0.01	NS	< 0.05
Exp. II						
Control (10)	278 ± 5.3	70.4 ± 3.52	7.6 ± 0.21	383 ± 54.7	577 ± 98.0	475 ± 76.4
Glucagon-injected(10)	272 ± 5.0	120.1 ± 5.82	10.0 ± 0.16	280 ± 31.0	520 ± 66.2	407 ± 89.7
p	NS	< 0.001	< 0.001	NS	NS	NS

凡例は表1、2に同じ。Glucagon-infused：持続的注入群（3.8 μg/hr/rat, 14d, sc）。Glucagon-injected：反復投与群（50 μg/100g bw, 2 times a day, 4 wk, sc）。

表5 ノルアドレナリン長期投与の褐色脂肪組織熱産生能への効果

	Body weight (g)	B A T weight (mg/100gbw)	Ffdm (%)	Oxygen consumption (pmol O ₂ /mg BAT/min)		
				Basal	Increase N A Glucagon	
Exp. I						
Control	244	70.7	8.9	398	413	343
(14)	±2.9	±3.38	±0.17	±32.6	±50.1	±56.8
N A -	224	93.9	12.8	296	194	109
infused (10)	±3.7	±5.25	±0.48	±33.8	±39.7	±35.5
p	NS	< 0.01	< 0.001	< 0.05	< 0.01	< 0.01
Exp. II						
2 Weeks						
Control	241	70.3	-	256	770	603
(5)	±1.8	±1.46		±18.4	±93.5	±69.3
N A -	228	142.8	-	230	640	466
injected (5)	±3.5	±14.52		±21.7	±152.0	±85.6
p	NS	< 0.001		NS	NS	NS
4 Weeks						
Control	277	65.1	-	217	830	394 *
(5)	±1.7	±4.02		±20.3	±113.2	±162.2
N A -	253	90.8	-	160	718	308 **
injected (5)	±3.4	±3.26		±16.6	±93.0	±99.4
p	< 0.001	< 0.001		NS	NS	NS

凡例は表4に同じ。NA-infused：持続投与群（12.5 μg/hr/rat, 14 d, sc）。

NA-injected：反復投与群（40 μg/100g bw, 2 times a day, sc）。

*, **: NAに対する反応との間の有意差、それぞれ p < 0.05 と 0.01を示す。

表 6 甲状腺機能状態の差による体重、体温及び摂食量の変化

	Body weight (g)		T col (°C)	Food intake (g/d/100g bw)
	Initl.	At Exp.		
Control (10)	194 ± 2.5	262 ± 1.6	38.5 ± 0.10	5.7 ± 0.07
Hypothyroid (10)	192 ± 3.6	227 ± 4.2	37.1 ± 0.10	4.0 ± 0.09
p vs Cont.	NS	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Hyperthyroid (10)	195 ± 3.4	262 ± 4.4	38.8 ± 0.09	5.1 ± 0.06
p vs Cont.	NS	NS	< 0.05	< 0.01

凡例は表 1 に同じ。T col : 結腸温度。Cont : Control。

Hypothyroid : 0.04 % methimazole-water 飲水群。Hyperthyroid : 0.03 % thyroid powder-food 摂食群。

表7 BAT熱産生への50%効果濃度(EC₅₀)

	EC ₅₀ (nM)		
	Isoprenaline	Glucagon	BRL37344
Control	0.42 ± 0.19 (9)	0.95 ± 0.47 (9)	0.46 ± 0.15 (9)
Hypothyroid	67.80 ± 29.76 (10)	11.60 ± 5.50 (8)	9.49 ± 3.08 (8)
p vs Cont.	< 0.05	NS	< 0.01
Hyperthyroid	0.52 ± 0.16 (11)	0.60 ± 0.20 (9)	0.32 ± 1.11 (9)
p vs Cont	NS	NS	NS

凡例は表1に同じ。

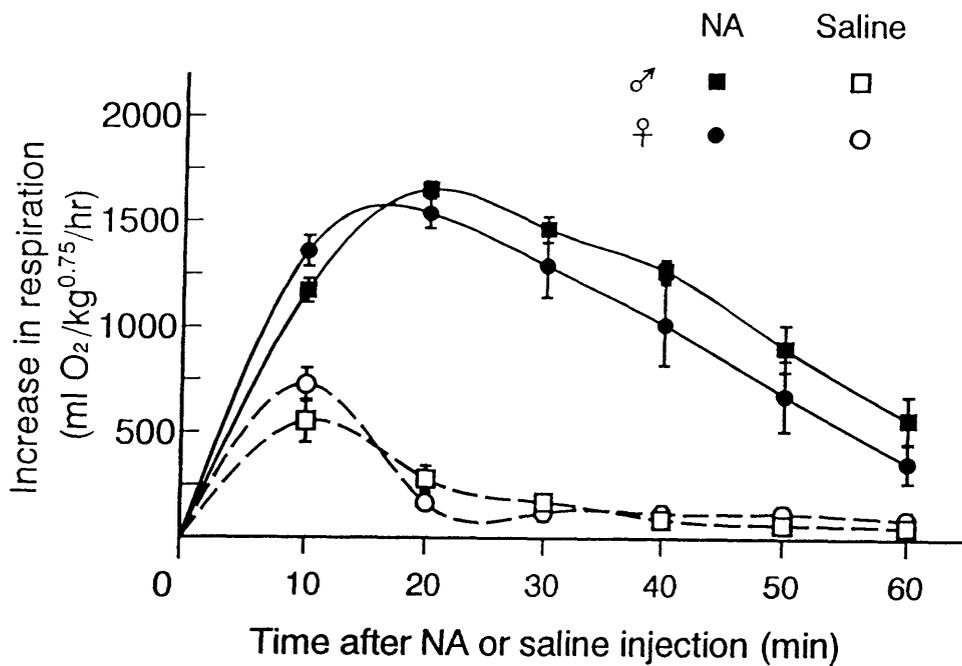


図 1 歴代寒冷馴化ラットのノルアドレナリン及び生理食塩水投与後の酸素消費量の変化
 NA : ノルアドレナリン、 $40 \mu\text{g}/100\text{g}$ 体重、腹腔内投与。

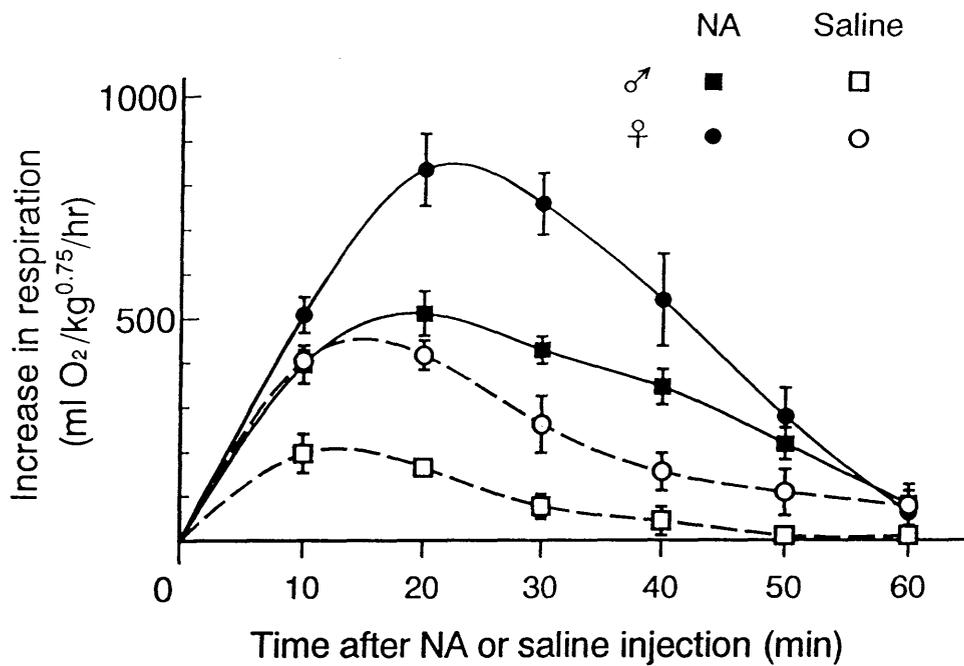


図 2 脱馴化温暖対照ラットのノルアドレナリン及び生理食塩水投与後の酸素消費量の変化
凡例は図 1 に同じ。

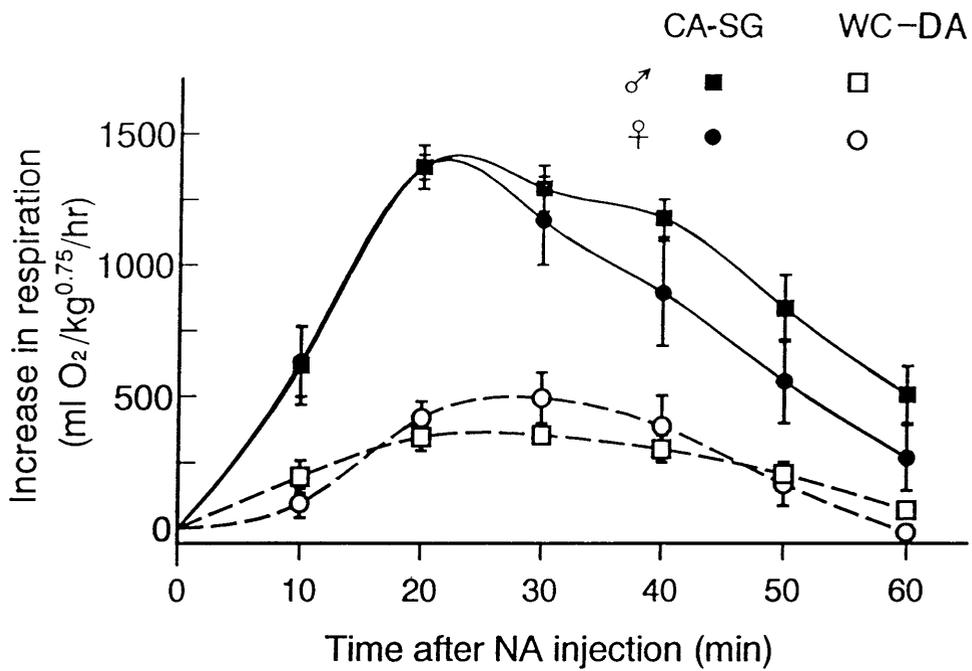


図 3 歴代寒冷馴化及び脱馴化温暖対照ラットのノルアドレナリンによる酸素消費量の変化。凡例は図 1 に同じ。 CA-SG: 歴代寒冷馴化ラット。 WC-DA: 脱馴化温暖対照ラット。

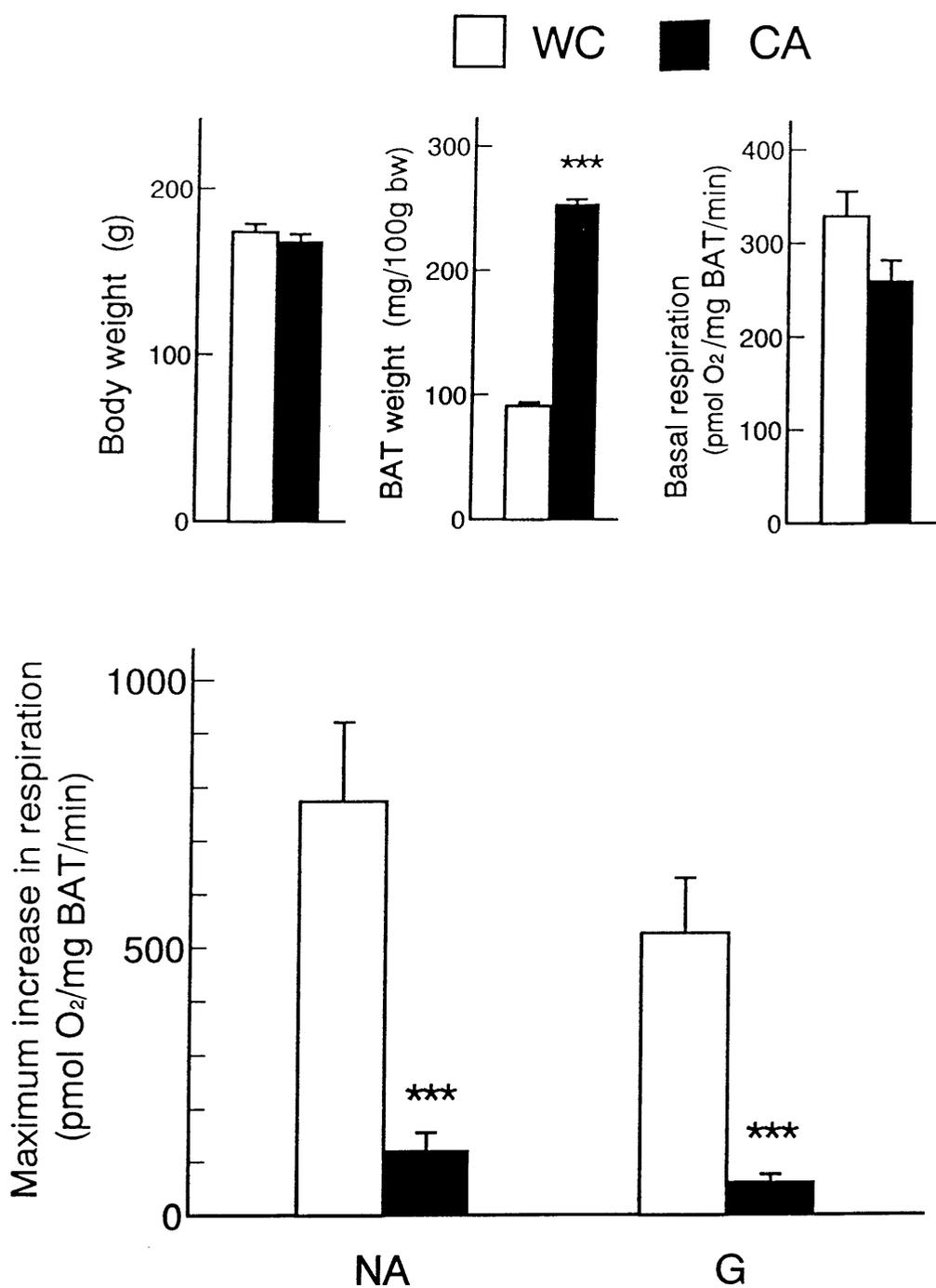


図 4 雌ラットの体重、褐色脂肪組織重量及び熱産生能
 WC : 温暖馴化群。 CA : 寒冷馴化群。
 NA : ノルアドレナリン。 G : グルカゴン。
 *** : WC との間 の 有意 差、 $p < 0.001$ 。

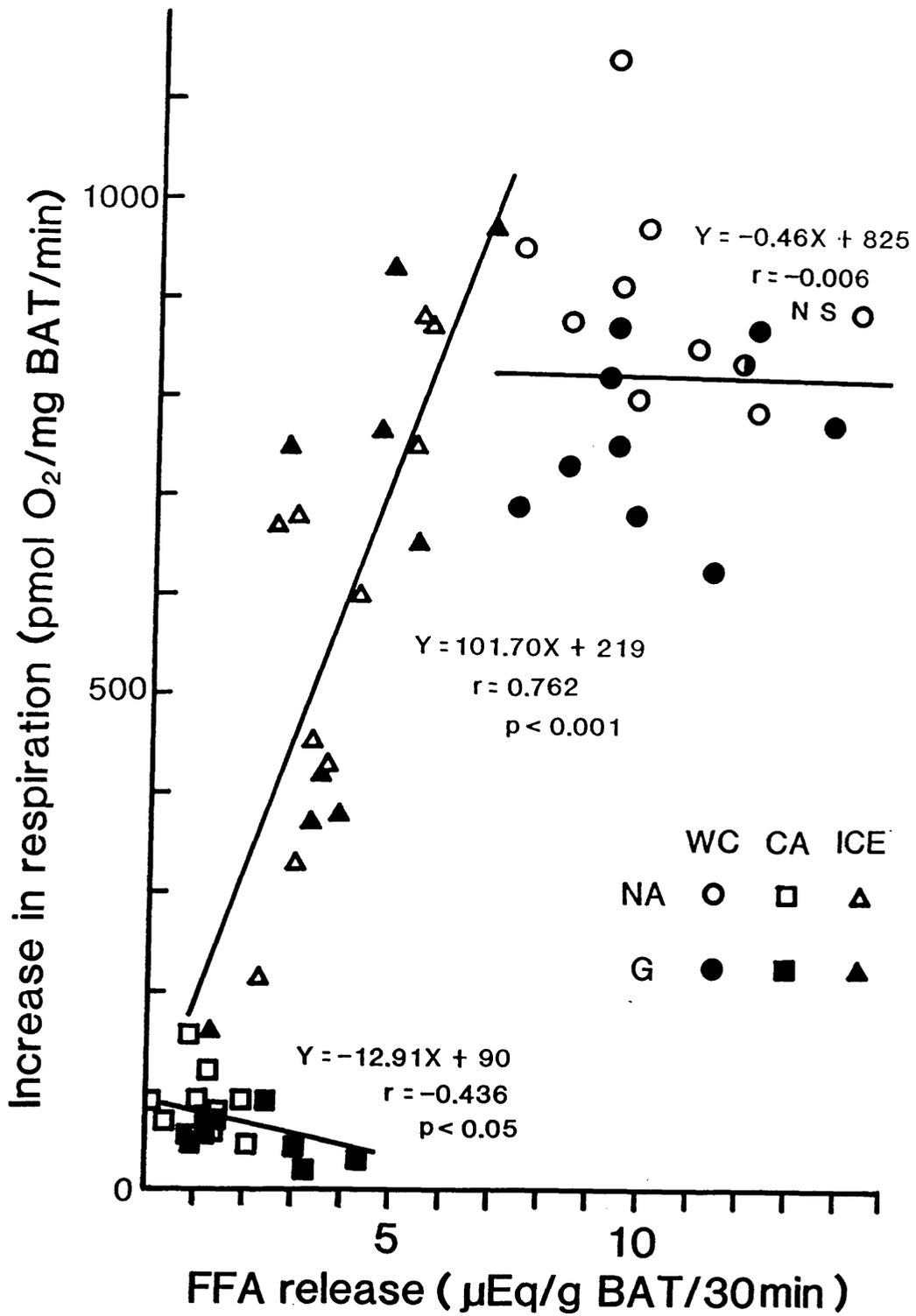


図5 褐色脂肪組織の脂肪分解と酸素消費増加との関係
 凡例は図4に同じ。ICE: 反復寒冷曝露ラット。

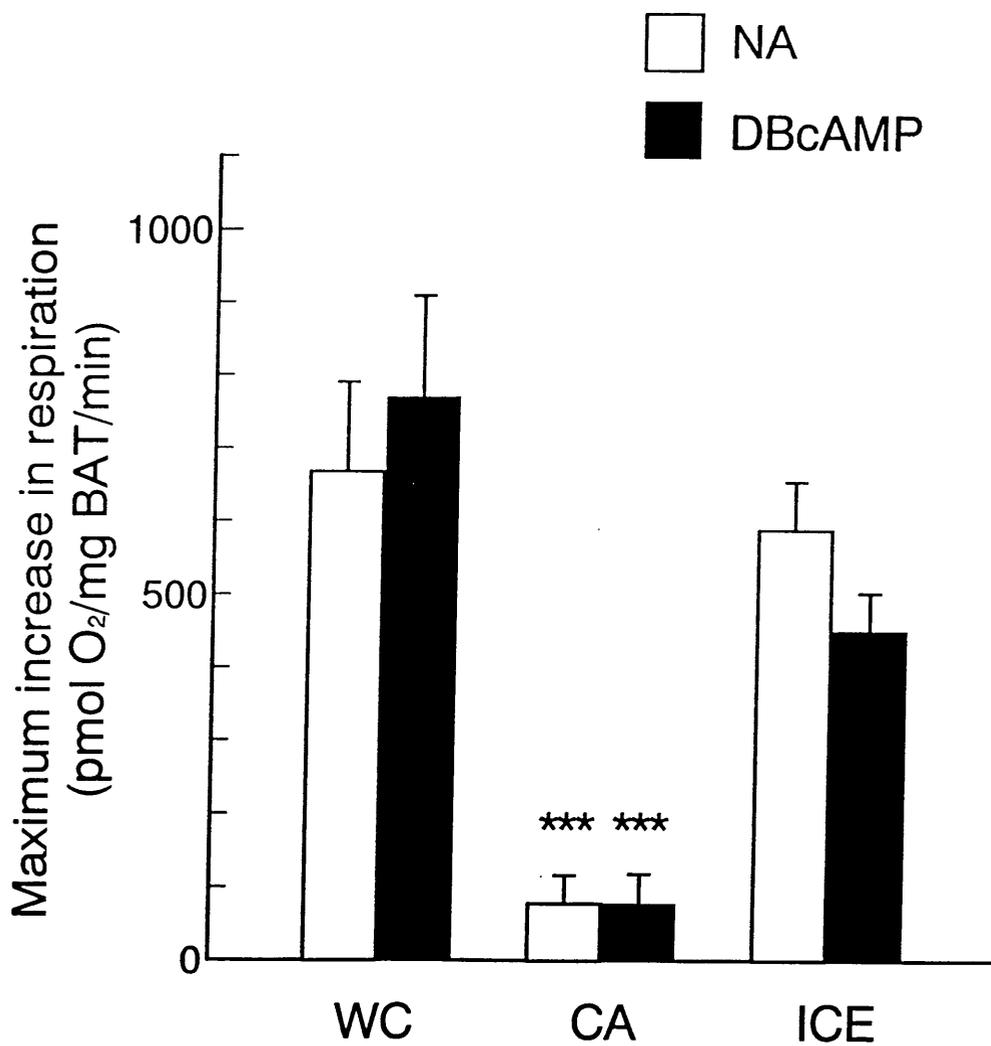


図 6 褐色脂肪組織熱産生へのジブチルサイクリックAMP (DBcAMP) の効果
 凡例は図 5 に同じ。

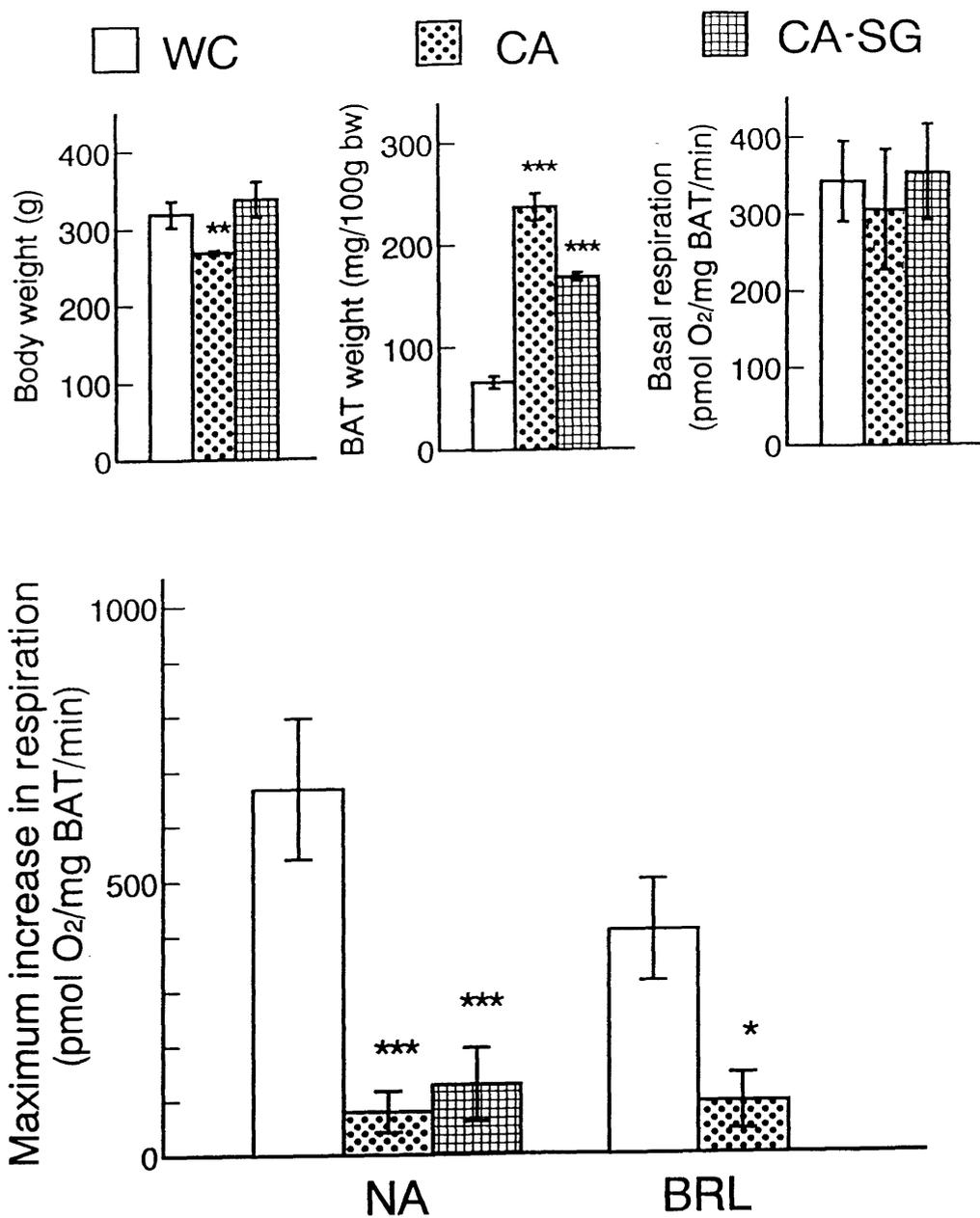


図 7 褐色脂肪組織熱産生への β_3 アゴニストの効果
 凡例は図 3、4 に同じ。 B R L : BRL37344

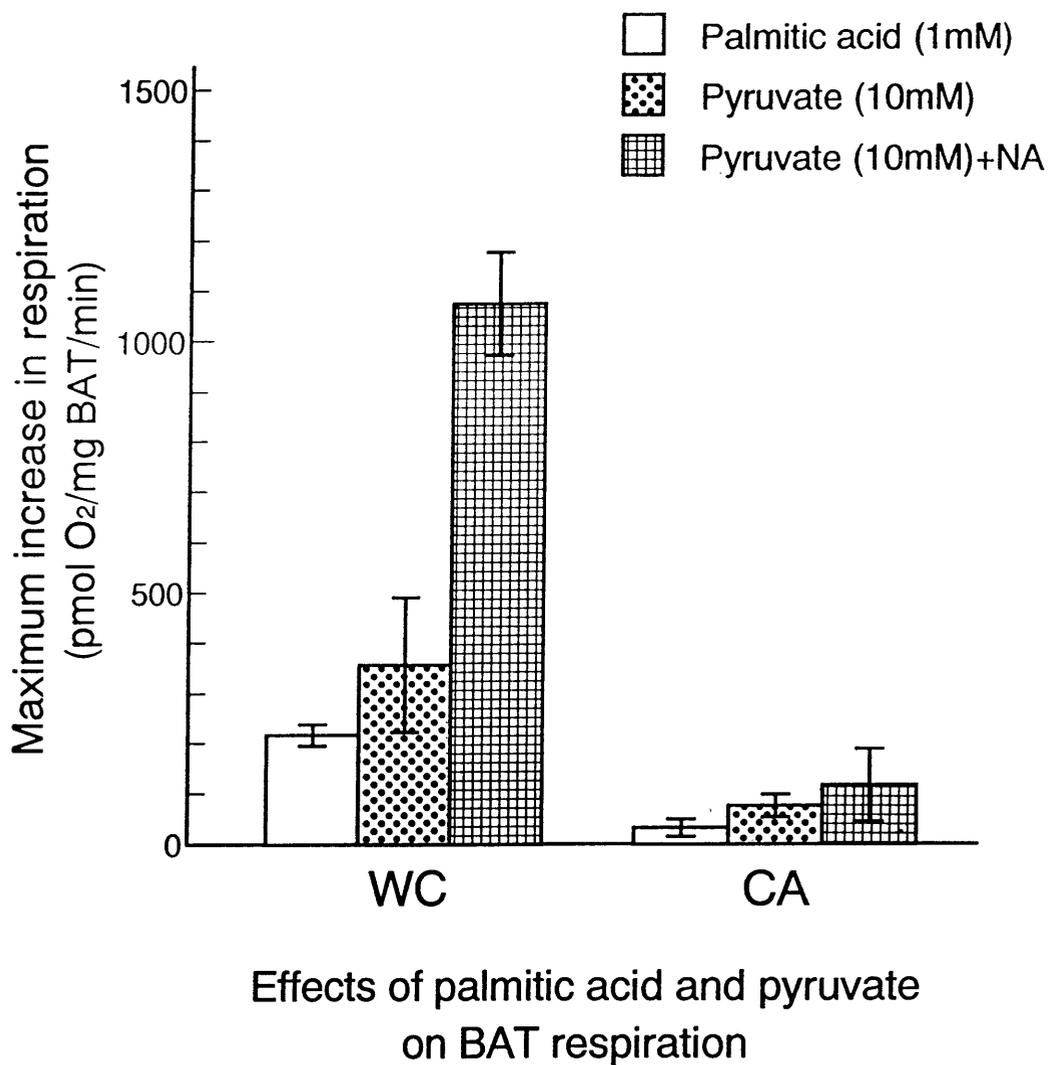


図 8 褐色脂肪組織熱産生へのパルミチン酸及びピルビン酸の効果

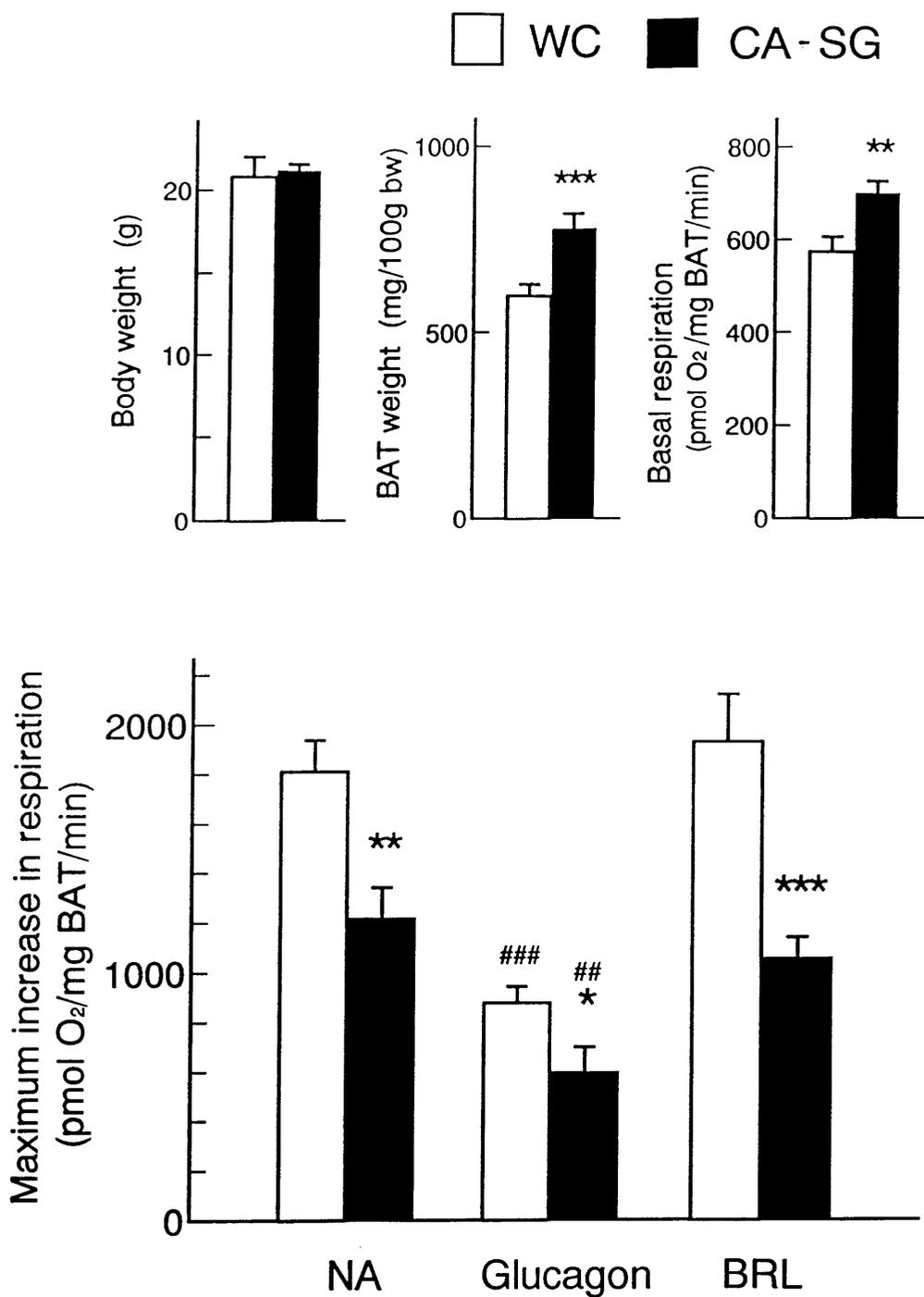


図 9 新生仔期ラット褐色脂肪組織の熱産生能
 凡例は図 7 に同じ。 *, **: WC との間での有意差、
 $p < 0.5$ 及び 0.01 。 ##, ###: NA との間
 の有意差、 $p < 0.01$ 及び 0.001 。

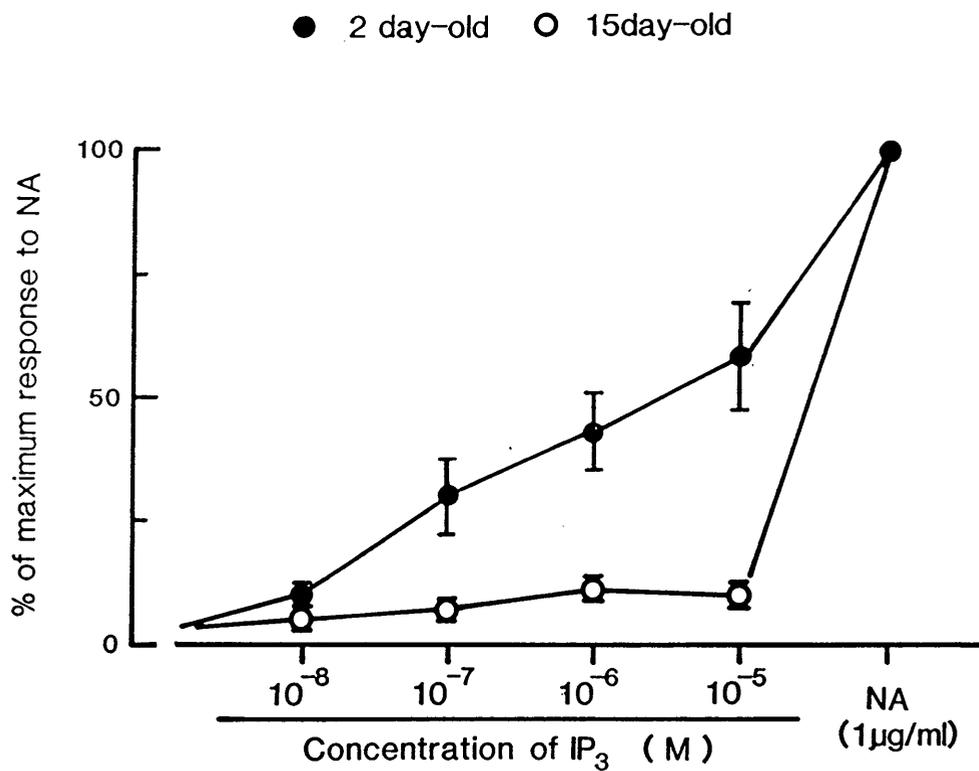


図 1 0 新生仔期ラット褐色脂肪組織の熱産生能への
 イノシトールトリフォスフェートの効果
 IP₃: イノシトールトリフォスフェート。

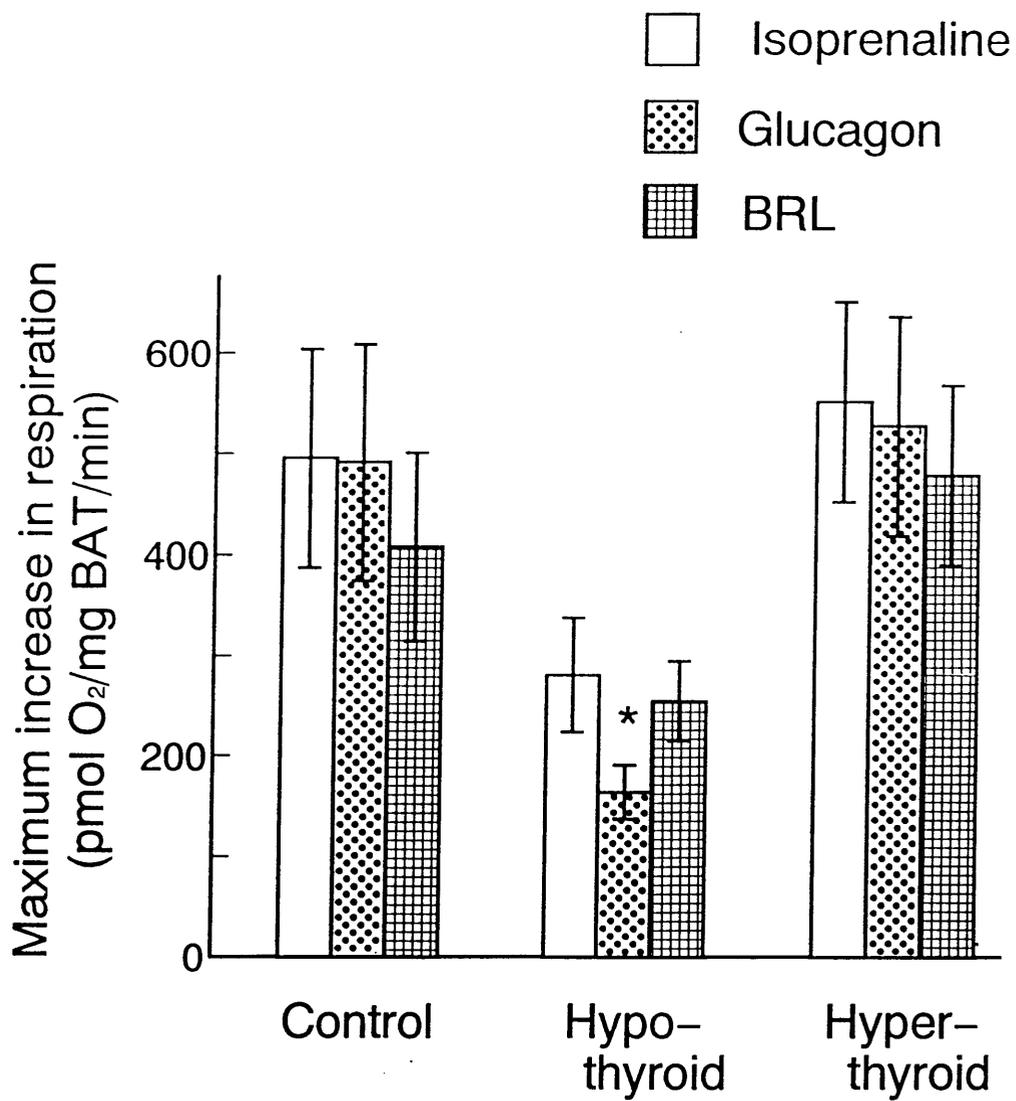


図 1 1 甲状腺機能状態の違いによる褐色脂肪組織熱産生能の差

B R L : B R L 3 7 3 4 4。

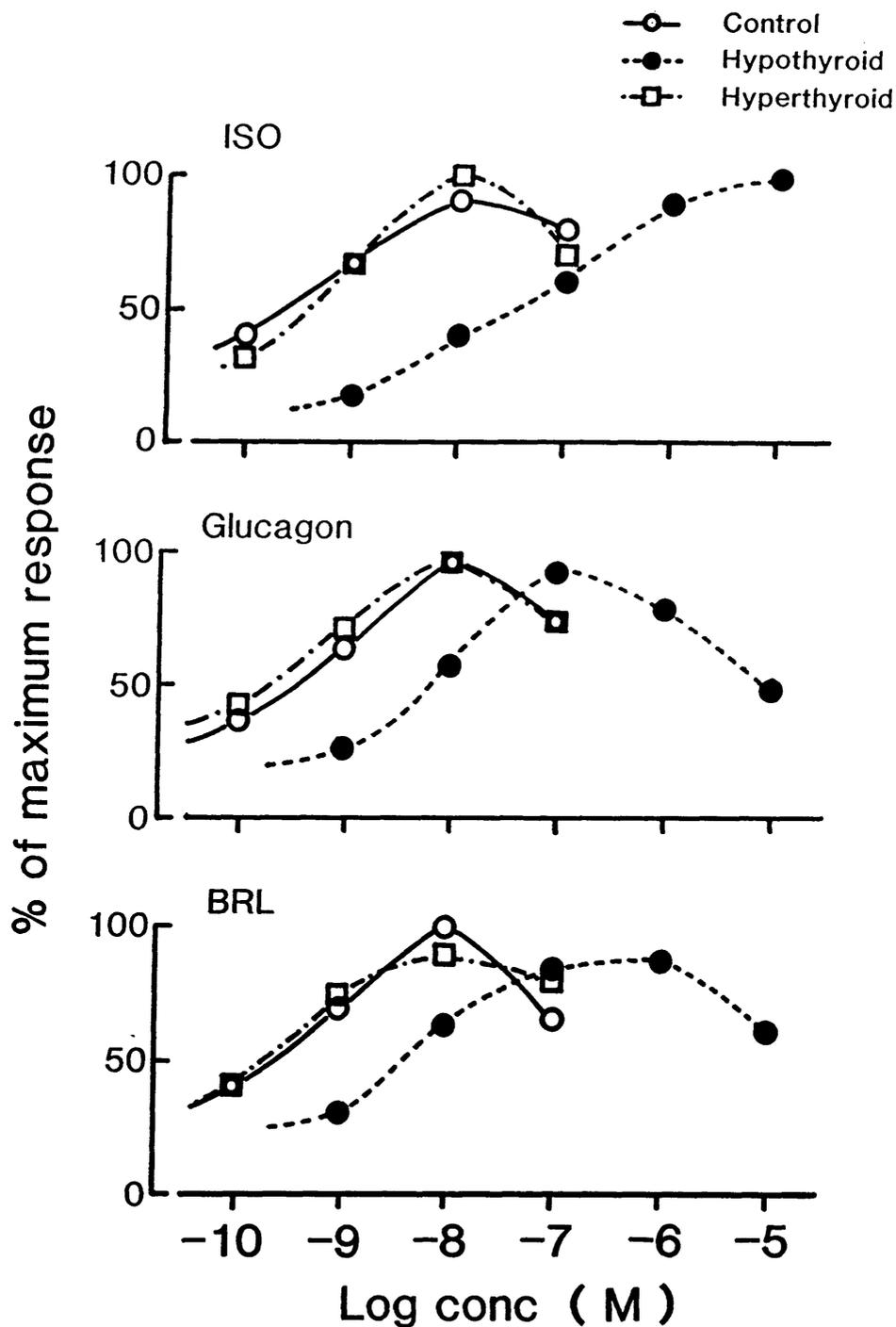


図 1 2 甲状腺機能状態の違いによる、褐色脂肪組織のβアゴニスト及びグルカゴンに対する感受性の差
I S O : イソプレナリン。