

ラットにおける運動トレーニング強度の 差異が寒冷時の熱産生に与える影響

榎村修生・柳平坦徳・酒井秋男・竹岡みち子・上田五雨

信州大学医学部環境生理学教室

Effects of Exercise Training Intensities on Cold-induced Thermogenesis in Rats

Osamu KASHIMURA, Yasunori YANAGIDAIRA, Akio SAKAI, Michiko TAKEOKA and Gou UEDA

Department of Environmental Physiology, Shinshu University School of Medicine

Abstract : This study was undertaken to investigate the influence of training intensity (running speed) on exposure to cold, known to be involved with the endurance training, such as the metabolisms, thermal responses, and amount of brown adipose tissue. The distance of running run by rats each day was constant for the two trained, heavily and lightly), but the treadmill speeds were varied.

After 9 weeks, the total weight and the lipid content of the brown adipose tissue in the heavily trained group decreased, compared with the control, but free-fatty dry matter content did not show significant differences between the control and the two trained groups. Among all rats exposed to 5°C and -5°C, the trained groups exhibited significantly higher oxygen consumption than the control, and the oxygen consumption in the heavily trained group was especially higher at 5°C. There was no significant difference in the metabolic response to noradrenaline between the two trained groups. After the cold exposure tested at -5°C for 3 hours, the blood glucose concentration of the heavily trained group was smaller than those of the control, cold-acclimated and lightly trained groups, and the plasma free-acids concentration of heavily trained was greater than those of the cold-acclimated and lightly trained groups. These results suggested that the thermogenesis to cold was altered greatly by the intensity of endurance training.

Key words : nonshivering thermogenesis, tolerance to cold, physical training, brown adipose tissue

非ふるえ熱産生, 耐寒性, 身体トレーニング, 褐色脂肪組織

1. 緒 言

運動トレーニングによって全身耐寒性が増強する、つまり運動トレーニングと耐寒性の間に正の交叉適応が成立する。Strömme et al.¹⁾及び榎村²⁾は、ラットにおいてトレッドミル走を毎分30mで1日1時間のトレーニングを8週間行なうと、全身耐寒性の改善がみられることを報告した。しかし、森谷ら³⁾は、毎分18mで1日1時間8週間のトレーニングでは、耐寒性の改善がみられないことを報告した。これら異なる報告から、運動トレーニングによる耐寒性の改善には運動強

度や量等の関与する可能性が示唆される。そこで、本研究は、耐寒性の改善がみられる範囲での運動強度の影響について検討するため、1日の運動量を一定にし、走行速度を変えることにより代謝及び体温の面から検討した。

2. 実験方法

実験には、5週齢のWistar系雄ラットを用い、下記に示すような4条件でそれぞれ10匹ずつ9週間飼育した。

1. 温暖対照群(WA群) : 気温23.0±1.0°Cにおいて安

静飼育した。

2. 寒冷馴化群(CA群)：気温 $4.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ において飼育した。

3. 軽度運動トレーニング群(LET群)：気温 $23.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ において安静飼育し、小動物用トレッドミルを用い走行速度 $20\text{m}/\text{min}$ で1時間の運動させた。

4. 重度運動トレーニング群(HET群)：気温 $23.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ において安静飼育し、 $40\text{m}/\text{min}$ で30分間の運動を実施した。

なお、運動トレーニングは1日1回(走行距離 1200m)週5回を9週間実施した。トレーニング終了時点における総走行距離は、LET及びHET群とも約 54km であった。ただし、HET群における最初の2週間は、走行速度を20から $40\text{m}/\text{min}$ へと漸増させる方法を取り、常時走行距離が1日 1200m になるように走行時間で調整した。

飼育終了後、次の実験をした。

a. 急性寒冷暴露時の代謝及び体温実験

ラットは、気温 24°C 、 5°C 及び -5°C へ1時間の暴露後、酸素摂取量(V_{O_2})及び結腸温(T_{col})を測定した。 V_{O_2} は、開放式呼吸ガス採気装置(空気流量 $350\text{ml}/\text{min}$)で測定した。なお、各群のラットは、それぞれの気温暴露前18から24時間絶食させ、気温 23°C のもとで飼育した。

b. 非ふるえ熱産生(Nonshivering thermogenesis : NST)の測定⁴⁾

ラットに無麻酔下I-Noradrenaline(NA： $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)を静脈内に投与し、NSTの実験をした。その際、NA投与前後における V_{O_2} 及び T_{col} を測定し、その変化からNAによるNSTを推測した。

c. 臓器重量及び褐色脂肪組成の測定

-5°C 急性寒冷暴露後、エーテル麻酔により脱血し、心重量、副睾丸脂肪及び褐色脂肪重量を測定した。そのうち、褐色脂肪組織(BAT)の代表である肩甲骨間褐色脂肪組織(IBAT)は、Folch et al.⁵⁾の方法で抽出したクロロホルム・メタノールを 60°C 乾燥計量し、脂質量を求めた。また、抽出後のIBATを 110°C 4時間乾燥させて、除脂肪乾燥重量(Fat Free Dry Matter : FFDM)を求めた。

d. 急性寒冷暴露時の血漿遊離脂肪酸及び血中グルコース濃度

-5°C 暴露3時間後の血漿遊離脂肪酸(FFA)は、NEFAテストワコー(和光純薬)、血中グルコースはグルコースはグルコーステストワコー(和光純薬)によりそれぞれ測定した。また、この急性寒冷暴露前後の

T_{col} の変化量をみた。

e. 体重、食物摂取量の測定

体重及び餌摂取量は週1度測定した。

3. 実験成績

1. 体重、臓器重量及び食物摂取量

Fig.1に体重の変動を示した。実験終了時点での体重は、WA群に比較しCA群及びHET群で有意($p < 0.01$)に小さいが、LET群との間には有意差がなかった。また、HET群の体重はLET群に比較して6週間以降有意($p < 0.01$)に小さかった。単位体重あたりの心重量は、WA群 $29.98 \pm 1.04\text{mg}/\text{kg}$ 比較してCA群 35.39 ± 1.31 、LET群 31.25 ± 1.27 及びHET群 $33.49 \pm 1.28\text{mg}/\text{kg}$ でそれぞれ有意($p < 0.01$)に大きかった。また、HET群の単位体重あたりの心重量は、LET群に比較して有意($p < 0.01$)に大きかった。また、総心重量に対する心室重量の割合は、WA群 $90.7 \pm 0.8\%$ 、CA群 $93.1 \pm 1.2\%$ 、LET群 $92.7 \pm 0.5\%$ 及びHET群 $93.1 \pm 1.7\%$ であった。その割合は、WA群と他群の間に有意差($p < 0.01$)が認められた。

副睾丸脂肪量(WAT)は、WA群 $211.08 \pm 90.32\text{mg}/\text{kg}$ 体重に比較しCA群 123.06 ± 10.00 、LET群 175.28 ± 20.16 及び $141.13 \pm 11.49\text{mg}/\text{kg}$ 体重でそれぞれ有意($p < 0.01$)に小さく、また、LET群に比較してHET群で有意($p < 0.01$)に小さかった。実験終了直前の1日1匹当りの食物摂取量は、CA群で平均 27.6g に対して

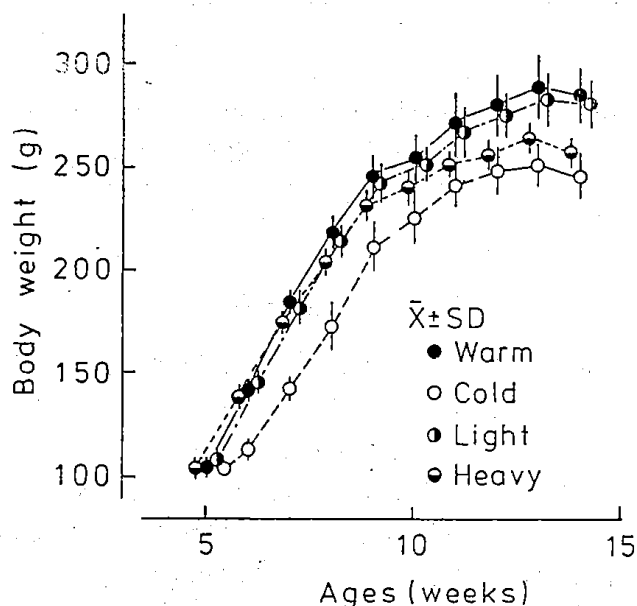


Fig.1 Changes in mean body weight in four groups.

WA群18.0g、LET群20.1g及びHET群20.0gで明かに少なく、LET群とHET群はほぼ同量であった。

IBAT重量及び組成は、Table 1に示した。IBAT重量は、WAとCA群及びHET群の間にそれぞれ有意差($p<0.01$)が認められた。IBAT内脂質量は、WA群に比較してCA群で有意($p<0.01$)に大きく、HET群で有意($p<0.01$)に小さかった。また、脂質量はLET群に比較しHET群で有意($p<0.01$)に小さかった。除脂肪乾燥重量は、WA群に比較しCA群で有意($p<0.01$)に大きかったが、LET群並びにHET群との間には差がなかった。

Group		Total	lipid	FFDM	Water
Warm	$\bar{X}$	1325.4	249.0	115.7	876.6
	SD	157.8	66.6	24.5	150.8
Cold	$\bar{X}$	2378.4*	603.7*	380.9*	1393.8*
	SD	141.8	52.7	24.3	121.5
Light	$\bar{X}$	1198.7	231.9	96.3	902.6
	SD	160.5	32.1	3.6	107.0
Heavy	$\bar{X}$	997.3*	128.1*	124.2	748.9
	SD	34.9	27.2	69.9	62.1

Warm group vs. each other group: * $p<0.05$

FFDM: Fat-free dry matter

Table 1 Weight and chemical composition of interscapular brown adipose tissue (mg/kg body weight).

2. 急性寒冷暴露時の代謝

Fig.2は、各群における3気温暴露時の V_{O_2} を示した。気温5℃において、 V_{O_2} はWA群に比較しCA群及びHET群でそれぞれ有意($p<0.01$)に大きかった。また、HET群の V_{O_2} は、LET群のそれより有意($p<0.01$)に大きかった。気温24℃から5℃への寒冷暴露において、 V_{O_2} の増加量はWA群平均47.5%、CA群55.6%、LET群47.4%及びHET群86.8%であった。気温-5℃において、 V_{O_2} はWA群に比較して他群で有意($p<0.01$)に大きく、また、LET群の V_{O_2} はCA群より有意($p<0.01$)に小さかった。さらに気温24℃から-5℃への寒冷暴露における V_{O_2} 増加量は、WA群55.4%、CA

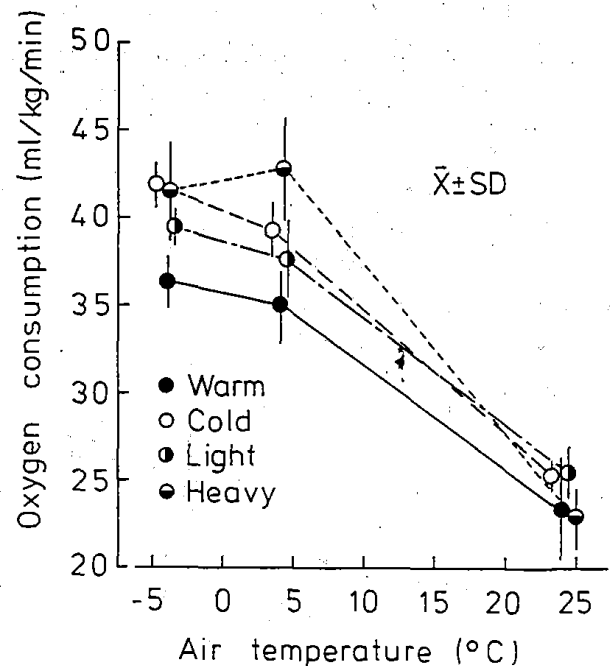


Fig.2

Resting metabolic rate at 24°C and metabolic response to two levels of cold at 5°C and -5°C. Control group vs. each other group at -5°C : $p<0.01$ Control group vs. cold-acclimated and heavily trained groups at 5°C : $p<0.01$

群65.2%及びLET群80.4%であった。また、気温5℃と-5℃においてそれぞれ V_{O_2} を比較すると、CA群の V_{O_2} は気温5℃の方が有意($p<0.01$)に大きいのにに対し、他群では有意差が認められなかった。

3. NST時の代謝

Fig.3は、NA投与後における V_{O_2} の変化量を示した。NA投与による V_{O_2} の増大は、CA群において他群より有意($p<0.01$)に大きく、WA群とLET群及びHET群の間の V_{O_2} の増大は、それぞれ差が認められなかった。

4. 急性寒冷暴露の血漿FFA及び血中グルコース濃度と代謝及び体温の関係

Fig.4は、寒冷暴露時における T_{coi} 変化量と血中グルコース濃度の関係を示した。Fig中に示す回帰直線は、WA群及びCA群について計算された。両者の関係は、HET群及びLET群においてその回帰直線によりX軸側に位置し、 T_{coi} が大きい傾向にあるにもかかわらず、血中グルコースは低かった。

Fig.5は、寒冷暴露時における T_{coi} 変化量と血漿FFAの関係を示した。Fig.中の回帰直線はFig.4と同

様にWA群及びCA群について示した。両者の関係は、HET群及びLET群ではCA群とは異なり、 T_{col} の上昇が大きいにもかかわらずFFA濃度が高値を示した。

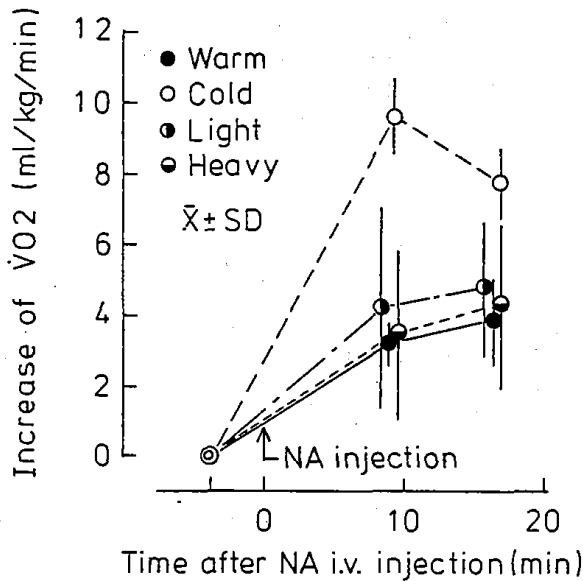


Fig.3
Increased metabolic responses measured at 5 th to 30 th minute after noradrenaline(NA) injection in four groups. Control group vs. cold group: $p < 0.01$

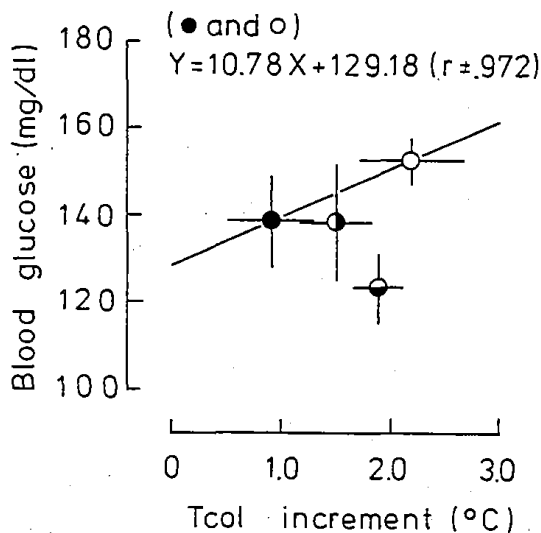


Fig.4
Relationships between colonic temperature increment and blood glucose concentration after acute cold exposure. Symbols same as in Fig.1.

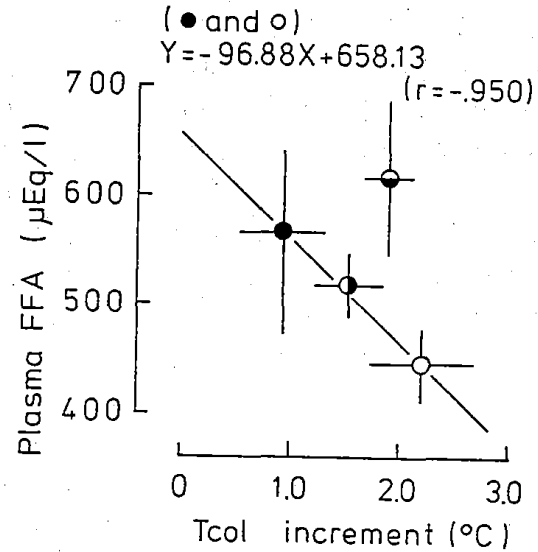


Fig.5
Relationship between colonic temperature increment and plasma free fatty acids concentration after acute cold exposure. Symbols same as in Fig.1.

4. 考 察

1. トレーニング及び寒冷馴化が臓器重量に与える影響

体重増加率は、WA群より他群がそれぞれ小さかった。これは、寒冷馴化及びトレーニングにより体重増加が抑制されたことを示している。また、同走行量でも運動強度の大きい方が、体重増加が一層抑制された。体脂肪量の指標⁶⁾であるWATは、寒冷暴露及びトレーニングにより減少しており、体重の増加が抑制された原因の一つは、体脂肪量の減少にあると思われる。また、走行距離が同じであっても、運動強度が大きいほど体重及びWATが小さく、トレーニング強度は体脂肪量に影響を与えることが推察された。寒冷馴化⁷⁾及びトレーニング⁸⁾による心肥大は、すでに報告されており、本研究でも心重量はWA群に比較しCA、LET及びHET群で大きく、寒冷馴化及びトレーニングは心肥大とくに心室肥大を生じた。また、HET群の心重量及び心室割合は、LET群より大きく、トレーニング強度の増大によりトレーニング効果が増強された。CA群の食物摂取量は、WA群に比較しかなり多く、寒冷刺激に対する熱産生増大のための手段と思われる。

CA群のIBAT重量及び除脂肪乾燥重量はWA群に比較して大きく、この結果は寒冷馴化による影響であると報告されている⁹⁾。また、HET群におけるIBAT重量及び脂質量は、WA群に比較して小さく、運動により

交感神経が刺激され¹⁰⁾、IBAT内脂質がエネルギーとして動員された結果であり、トレーニングによる影響のひとつと思われる。また、LET群のIBAT重量及び組成は、WA群との間に有意差を認めず、トレーニング強度の小さい場合、IBAT内組成にはほとんど影響を与えなかった。つまり、IBAT組成とくに脂質量は、運動量より運動強度との間に密接な関連のあることが示唆された。

BATは、NST発現の主要部位であり、寒冷馴化では、BATの増大にともなう寒冷暴露による V_{O_2} の増大が報告されている⁹⁾。つまり、BATの増大が耐寒性増強の一指標と考えるならば、トレーニングによるBATの増大がないにもかかわらず寒冷暴露時の V_{O_2} の増加が認められ、トレーニングによる耐寒性の増強は、BATの関与しない熱産生の増大によるものと思われる。また、寒冷馴化ラットは、BATがNSTの促進の60~65%に寄与していると報告されており¹¹⁾、トレーニングラットの耐寒性の増強は、BATのNSTの促進によらない可能性が示唆された。また、この増強は、トレーニング強度が大きいほど強いことが推測された。

2. 急性寒冷暴露の代謝

寒冷暴露時の V_{O_2} は、寒冷馴化及びトレーニングにより全身耐寒性を改善することが明らかになった。また、HET群における寒冷暴露時の V_{O_2} は、LET群に比較し大きく、トレーニング強度の増大は耐寒性をさらに高めることがわかった。本研究におけるLET群の運動強度は、阿部ら¹²⁾から推察すると、 V_{O_2max} の約70%であり、この強度以上のトレーニングはラットの場合に耐寒性の改善が確認されたになる。

3. NA投与によるNST反応

寒冷馴化ラットは、寒冷暴露時NAの分泌増加の持続によりNSTの促進が生じる報告がされている¹³⁾。また、寒冷馴化ラットは、NA投与により敏感に V_{O_2} や T_{coi} の上昇のあることも報告されている⁴⁾。本研究において、NA投与による V_{O_2} の上昇は、CA群で顕著に大きく、LET及びHET群はWA群とほぼ同じ反応を示した。つまり、LET及びHET群におけるNA感受性は、CA群に比較し低く、WA群と同じ反応を示した。Str ϕ mme et al.²⁾は、トレーニングラットにおけるNA投与後の V_{O_2} 及び T_{coi} の上昇は、寒冷馴化ラットに比較し小さく、NAに対する反応が敏感になり、寒冷暴露時の V_{O_2} の亢進がふるえ熱産生能力の増強にあると推察している。運動中の血漿NAは、上昇することが報告され

ている¹⁰⁾。また、寒冷馴化により、寒冷暴露時の血漿NAは、顕著な増加をすることも報告されている¹⁴⁾。繰り返しNAを投与したラットは、NSTが増大し、耐寒性が高められると報告されている⁴⁾。以上、3つの報告から考え、運動、寒冷、並びに外因的NA投与は、生体内における量的なNAの増大に違いがあると思われるが、生体に対し同じ効果を持つように思われる。つまり、トレーニングはNAに対する感受性の増大を示し、NSTの亢進が予想されたが、NAによる反応に関しては、トレーニングラットが寒冷馴化ラットと類似する反応は認められなかった。トレーニングラットの耐寒性の改善は、寒冷暴露時のNAによるNSTの増大ではなく、その他のNST及びふるえ熱産生の増大によるものと推察される。また、NA投与による熱産生反応は、トレーニング強度の違いで差がなかった。しかし、5℃寒冷暴露時、トレーニング強度の大きいほど V_{O_2} が大きく、トレーニング強度の差異は、NA以外によるNST及びふるえ熱産生に影響を及ぼすことが推測される。寒冷暴露による耐寒性実験を考えると、CA群は終始寒冷暴露刺激を受けた状態であり、寒冷暴露に対して慣れているが、LET及びHET群は普段温暖の環境に暴露されており、実験で初めて寒冷暴露環境に暴露されたWA群と同じ条件にある。そのため、LET及びHET群では寒冷馴化初期の反応が生じ、しかもその反応はWA群より増大することが考えられた。また、その反応はトレーニング強度の大きいほど増大すると思われる。つまり、寒冷暴露初期における反応は、主に糖代謝に関与するNSTやふるえ熱産生の亢進であり、トレーニング群ではさらにこの機序の増強が考えられる。

4. 急性寒冷暴露時の血漿FFA及び血中グルコース濃度

寒冷暴露時、血漿FFA濃度は尿中VMA排世量と正の相関関係が報告されている¹⁵⁾。つまり、寒冷刺激によって放出されたNAは脂肪組織に働きFFAの動員を促進し、FFAレベルを上昇させると思われる。また、寒冷馴化ラットはNST発現時にFFAレベルの上昇度が小さく、FFA利用の促進が報告されている¹⁵⁾。

Fig.4及び5にみられるような T_{coi} 増加量と暴露後のFFA及びグルコース濃度の間の相関関係は、WA及びCA群で認められることが、Kuroshima et al.¹⁶⁾によって報告されている。そこで本研究では、この両者の相関関係について、WA及びCA群でそれぞれの回帰直線を求め、LET及びCA群における位置関係からFFA及びグルコース代謝を検討した。Kuroshima et al.¹⁶⁾

によれば、寒冷馴化ラットは、寒冷暴露時 T_{co1} の低下が少なく、高いグルコース及び低いFFA濃度を示すことを報告し、本研究も同傾向を示した。Depocas¹⁾によれば、寒冷暴露後に高いグルコース及び低いFFA濃度を示すのは、寒冷暴露時FFAの利用が増加し糖新生が増大しているためであると報告している。本研究におけるLET群では、それぞれ両者の関係は回帰直線上のWA群とCAとの中間に位置し、CA群への移行状態を示すように考えられる。また、HET群ではそれぞれ両者の関係が、回帰直線からかなり離れており、 T_{co1} の上昇が大きいにもかかわらず低いグルコース及び高いFFAを示し、Depocas¹⁷⁾の報告から解釈すると、グルコース及びFFAの利用は少ないと考えられる。しかし、HET群における寒冷暴露時の代謝は亢進しており、何らかの代謝が促進されていることは確かであり、グルコースが低値を示すのは寒冷暴露時にグルコース利用は促進されるが生合成速度が亢進しないとも考えられる。今後、トレーニングラットにおける寒冷暴露時のFFA及びグルコース代謝回転を検討する必要がある。また、LET及びHET群における温暖安静時のグルコース濃度は、WA群のそれより低値を示すことが報告されており¹⁸⁾、寒冷暴露後のグルコース濃度はトレーニングによる糖代謝の基礎レベルが影響すると同時に、遊離脂肪酸にも影響を与えると思われる。

5. 要 約

本研究は、持久的トレーニング強度の差異が、急性寒冷暴露時の熱産生に如何なる影響を与えるかについて、代謝及び体温等の面から検討した。

1. IBAT重量及びIBAT内脂質量は、WA群に比較しHET群で有意に低下した。
2. 急性寒冷暴露時、 V_{O_2} はWA群に比較しLET群及びHET群において有意に大きく、また、LET群よりHET群で大きかった。
3. NA投与による V_{O_2} の増加は、WA群とHET群及びLET群の間にそれぞれ差がなかった。
4. -5°C 寒冷暴露時、 T_{co1} の増加はWA群に比較し、LET群及びHET群で有意に大きく、また、HET群はLET群より大きかった。
5. HET群において、寒冷暴露時の T_{co1} の上昇が大きいのに対し、暴露後のFFA及びグルコース濃度はそれぞれ高値及び低値を示した。
6. トレーニングラットは、急性寒冷暴露に対しNA以外のNST及びふるえ熱産生により V_{O_2} を増大させ、この増大は運動強度の大きいトレーニングほど大きいことが推察される。

この研究の一部は、1989年文部省科学研究費（奨励研究A、課題番号01780182）の助成により行われた。

文 献

- 1) Str ϕ mme, S., and Hammel, H.T.: Effects of physical training on tolerance to cold in rats. *J Appl Physiol*, 23: 815-824, 1967
- 2) 櫻村修生: ラットにおける持久的トレーニングが耐寒性に与える影響. *長野体育学研究*, 3: 31-38, 1988
- 3) 森谷繁, 井川和夫, 広重力: ラットの非ふるえ産熱と血漿遊離脂肪酸利用に対する運動鍛錬効果, *日生気誌*, 17: 59-64, 1980.
- 4) LeBlanc, J. and Pouliot, M.: importance of noradrenaline in cold adaptation. *Am J Physiol*, 207: 853-856, 1964
- 5) Folch, J., Ascoli, I., Lees, M., Meath, J.A. and LeBlanc, F.N.: Preparation of lipid extracts from brain tissue. *J Biol Chem*, 191: 833-841, 1954
- 6) 大野都美恵, 黒島晨凡: 蔗糖添加過食による非ふるえ熱産生促進に関する研究. *日生気誌*, 20: 55-60, 1983
- 7) Evonuk, E. and Hannon, J.P.: Cardiovascular and pulmonary effects of noradrenaline in the cold-acclimated rats. *Fed Proc*, 22: 911-916, 1963
- 8) Oscia, L.B., Spirakakis, C.N., Wolff C.A. and Back R.J.: Effects of exercise and food restriction on adipose tissue cellularity. *J Lipid Res*, 13: 588-592, 1972
- 9) Roberts, J.C. and Smith, R.E.: Time-dependent responses of brown fat in cold-exposed rats. *Am J Physiol*, 212: 519-525, 1967
- 10) Hartley, L.H.: Multiple hormonal responses to graded exercise in relation to physical training. *J Appl*

Physiol, 33 : 602-606, 1972

- 11) Forster, D.O. and Frydman, M.L. : Norshivering thermogenesis in rat. II measurements of brown flow with micropheres point to brown adipose tissue as the dominant site of the calorigenesis induced by noradrenaline. *Can J Physiol Pharmacol*, 56 : 110-122, 1978
- 12) 安部孝, 坂元晃史, 浅見俊雄, 東恵彦, 広田公一 : ラット体内コレステロール生合成に及ぼす運動トレーニングの影響. *日本生理誌*, 48 : 775-782, 1986
- 13) Moore, K.E., Calvert, O.N. and Brody, T.M. : Tissue catecholamine content of cold acclimated rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 106 : 816-818, 1961
- 14) LeBlanc, J., Robinson, D., Sharman, D.F. and Tousignant, P. : Catecholamines and short-term adaptation to cold in mice. *Am J Physiol*, 213 : 1419-1422, 1967
- 15) 伊藤真次, 土井勝彦 : 寒冷への適応, 3. カテコールアミン, *北海道医誌*, 45 : 1-12, 1970
- 16) Kuroshima, A., Doi, K., Kurahashi, M. and Ohno, T. : Effects of diets on cold tolerance and metabolic responses to cold in fasted rats. *Jpn J Physiol*, 26 : 177-187, 1976
- 17) Depocas, F.F. : Blood glucose as fuel in white rats exposed to cold : result with fasted rats. *Am J Physiol*. 202 : 1015-1017, 1962
- 18) Paul, P. and Issekutz, B. : Role of extramascular energy sources in the metabolisms of the exercising dog. *J Appl Physiol*, 22 : 615-622, 1967