

高所および暗所飼育ラットの熱産生と断熱性

柳平坦徳・酒井秋男・竹岡みち子・浅野功治・米川正利・上田五雨

信州大学医学部環境生理学教室

Thermogenesis and Thermal Insulation in Rats Raised at High Altitude and Dark Condition

Yasunori YANAGIDAIRA, Akio SAKAI, Michiko TAKEOKA, Koji ASANO,
Masatoshi YONEKAWA and Gou UEDA

*Department of Environmental Physiology, School of Medicine, Shinshu University
Matsumoto, Japan*

Abstract : The aim of this study was to investigate the effects of high-altitude and dark condition on thermogenesis and thermal insulation in rats. The animals raised at Yatugatake Mountain (altitude, 2400m) and Matsumoto (altitude, 610m) comprised the six groups, namely, HC: animals raised in the normal cage in the experimental tent at 2400m, HD: animals raised in the cage covered by cardboard in the experimental tent at 2400m, LIC: animals raised in the normal cage in the laboratory room at 610m, LID: animals raised in the cage covered by cardboard in the laboratory room at 610m, LOC: animals raised out of doors in the normal cage at 610m and LOD: animals raised out of doors in the cage covered by cardboard at 610m. Each group of animals was kept under the above condition for 1 month. The growth of body weight in LID group was the highest in all groups until the 7-8th day, but on the 30th day, the values of both LOD and HD were higher than those of other groups. The changes in food and water intake well accord with those in body weight during the experimental periods. Oxygen consumption (VO_2) measured at 0°C in HC was the highest among all groups. While, the values of VO_2 in LIO and LID groups were significantly lower than those in the other groups ($p < 0.05$). There was a significant positive correlation between interscapular brown adipose tissue (IBAT) weight and body weight ($r = 0.56$, $p < 0.05$). Their values of both HC and LOC were located at the part upper than the least squares regression line, while the symbols for LIC, LID and LOD groups were located at the part lower than the line. In the relative IBAT weight to body weight, the value for HC group was the highest among all groups. There was no relation between various pelt components and environmental temperatures. In the wet pelt and sebum weights, the effects of raising on the dark condition were observed ($LOD > LOC$; $p < 0.05$, $HD > HC$; $p < 0.05$). There were significant inverse correlations between various pelt components and VO_2 measured at 0°C . While, there was a significant positive correlation between VO_2 measured at 0°C and IBAT weight. These results indicate that adaptation to cold in rats is established by an enhanced thermogenesis via IBAT, while the reaction to dark condition in rats decreases the thermogenesis and may increase insulation by pelt.

Key words : thermogenesis, insulation, dark condition, high altitude

熱産生, 断熱性, 暗所条件, 高所

はじめに

一般に実験用小動物のマウス、ラットなどの寒冷に対する馴化過程における生理的適応として熱産生が注目され、数多くの報告がなされている。しかし毛皮、皮下脂肪など熱の断熱性に関する適応は古来より考えられているにもかかわらず、はっきりした寒冷適応との関係を明確にした報告は非常に少ない。我々は、野生のアカネズミ¹⁾、ヒメネズミ²⁾およびヤチネズミ³⁾において、生息外気温の低下に伴い、その毛皮量、全毛量および皮脂量が増加し、それらの間には負の相関関係があることを見いだした。これらの結果は、小動物においても寒冷環境下で防熱機構の発達がおこることを示している。実験用ラットでは、その断熱性は室温飼育における低温馴化では対照動物群と差が認められず、熱産生のみ増加したが、室外飼育では夏より冬にその断熱性が増強し、熱産生はやや減少するという報告もある⁴⁾。このような実験結果は、動物の断熱性に結びつく毛、皮下脂肪、皮膚などが外気温以外に季節または日照時間（明暗）などによって変化する可能性を示唆している。そこで我々は実験用ラットを用い、動物が外気温および明暗に対して熱産生または防熱機構にどのような反応を示すかについて検討してみた。

材料および方法

実験動物には、体重約100g前後のwistar系雄ラットを60匹用いた。動物の飼育場所は 1.八ヶ岳黒百合平（標高2400m）の実験用テント内、2.信州大学恒温動物飼育室（標高610m）、3.信州大学戸外飼育（標高610m）の3カ所とし、飼育期間は1987年10月1日－10月31日までの1ヶ月間とした。各飼育場所では1群は対照群、他群は光を遮断させるため、巣箱をなるべく薄くしたダンボール箱で覆って暗所飼育群とした。実験群は2400m対照飼育群(HC)、2400m暗所飼育群(HD)、610m恒温室対照飼育群(LIC)、610m恒温室暗所飼育群(LID)、610m戸外対照飼育群(LOC)および610m戸外暗所飼育群(LOD)の計6群とした。なお、LIC群の明りは人口燈とし1日は明期12時間、暗期12時間である。動物の飼育期間中、各群の体重、食物および水分摂取量を一週間毎に測定した。平均外気温は1の地域では2.85℃（最低-6.0－最高12.0℃）、2の恒温動物飼育室では19.5℃（最低17.8－最高20.5℃）、3の高所実験テント内では13.4（最低2.0－最高20.0℃）であった。飼育終了後直ちに動物を人工気象室に移し、体重、酸素消費量(VO₂)、炭酸ガス産生量(VCO₂)、結腸温

(Tco)、熱貫流率(Tc)、呼吸商(RQ)などについて、外気温(Ta)30、20、10、0℃の各温度下で測定した。VO₂測定には、開放式代謝装置を用いた⁵⁾。VO₂測定10分後、Tco測定のため、サーミスタプローブを肛門から5cm挿入した。Tcの値は $Tc = VO_2 / Tco - Ta$ の式から求めた。RQは VCO_2 / VO_2 の値から求めた。測定終了後、各動物をエーテル麻酔で死亡させた後、体重の測定後、褐色脂肪組織、毛皮組織を摘出した。二つの組織の湿重量を測定後、更に60℃の温度で8時間乾燥し乾重量も求めた。それらの乾燥組織を脂肪、水分および残渣成分分析のため組織20倍量のクロロホルム・メタノール(2:1V/V)でホモジネイトし、脂肪抽出を行った⁶⁾。

結 果

1. 飼育期間における体重、食物および水分摂取量

Fig.1は飼育期間中の各群間の体重変化を示す。飼育1週間目においては、610m恒温飼育室のLIC、LIDの両群の成長が著しい。飼育2週間目になると、同じ場所で飼育された動物でも暗所飼育群のほうが対照群を上回る。ここまでの飼育において最大体重群はLID群、また最小体重群はLOC群であった。しかし、3－4週間になるとLICおよびLID体重の成長に乱れがみられ、その成長は抑制された。特に、LID群では体重の減少まで見られるようになった。

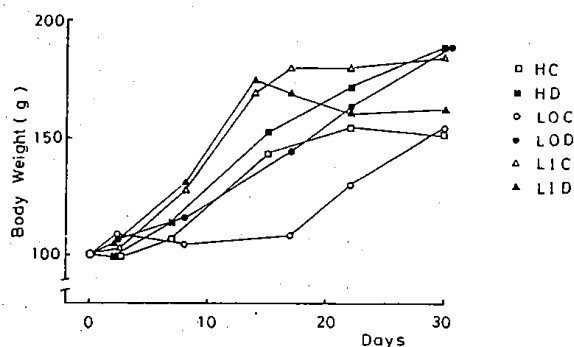


Fig.1. Changes in body weight of rats raised at Mt. Yatsugatake and Matsumoto. HC: raised at 2400m, HD: raised at 2400m(dark), LOC: raised out of doors, at 610m, LOD: raised out of doors at 610m(dark), LIC: raised out of doors at 610m, LID: raised in doors at 610m(dark).

Fig.2は飼育期間中の食物および水分摂取量の変化を示す。飼育1-2週間目まで最大の食物および水分摂取量群はLIC群であった。一方最小摂取量はLOC群ではほぼ体重の推移に一致した。しかし、飼育3-4週間になると、高所飼育群のHC、HDおよび戸外飼育群のLOC、LOD群の摂取量が伸びてきて、恒温飼育群の摂取量はLIC群では増加が止まり、LID群では減少してきた。

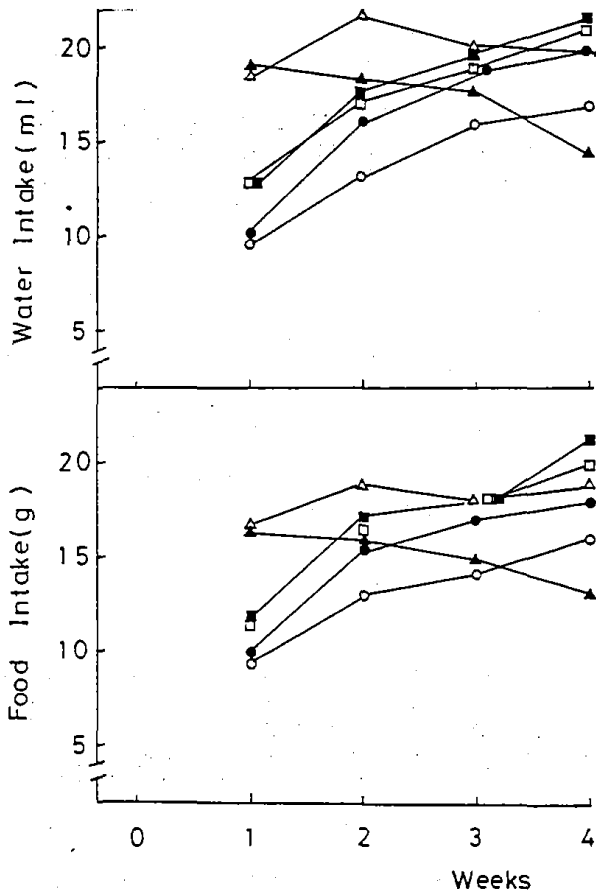


Fig.2. Changes in food and water intake of rats raised at Mt.Yatsugatake and Matsumoto. Symbols are the same as those in Fig.1.

2. 各群の酸素消費量 (VO₂) および結腸温 (TCO) の比較

Table 1 に外気温 0℃における各群のVO₂ および TCOの値を示した。VO₂ に関しては、動物の中性温度域に近い30℃では各群間で差は見られないが、最も低い0℃の外気温では2400m高所飼育群のHCおよびHD群で最大となり、ついで610m戸外飼育群のLOCおよびLOD群がそれに続く。一方610m恒温飼育群のLICおよびLID両群の値は他の群と比較して有意な減少となっている。また暗所飼育によるVO₂の影響につい

てはLIC<LIDを示した他はHC>HD、LOC>LODを示したが有意差には至らなかった。

Table 1. Oxygen consumption(VO₂) and Colonic temperature (Tco).

Group	VO ₂ (ml/kg/min)			
	Ambient temperature(℃)			
	0	10	20	30
HC	59.8±6.8*	42.0±6.0*	33.0±7.3*	24.0±9.0
HD	57.5±11.1*	35.4±6.3	33.6±4.4*	27.2±7.2
LOC	55.4±10.8*	50.0±7.3*	35.0±4.2*	26.8±5.1
LOD	48.5±9.5*	46.4±7.4*	32.8±4.3*	26.5±7.0
LIC	36.9±8.2	36.7±9.0	27.0±7.3	25.2±8.1
LID	37.6±7.3	36.5±8.2	28.2±4.3	27.2±6.2
	Tco(℃)			
HC	38.6±0.09*	38.2±0.07	38.2±0.12	38.4±0.11
HD	38.7±0.07*	38.4±0.06	38.2±0.08	38.1±0.09*
LOC	38.5±0.11*	38.6±0.12*	38.5±0.07	38.3±0.09*
LOD	38.8±0.10*	38.7±0.07*	38.6±0.08*	38.4±0.04
LIC	38.2±0.14	38.2±0.18	38.2±0.16	38.7±0.09
LID	38.0±0.14	38.1±0.06	38.3±0.10	38.5±0.14

Values are mean±SD. *:p<0.05 vs LIC

NS: not significant. HC: raised in a tent at alt.2400m, HD: raised in a tent at alt.2400m under dark condition, LOC: raised out of door at alt.610m, LOD: raised out of door at alt.610m under dark condition, LIC: raised in doors at alt.610m, LID: raised in doors at alt.610m under dark condition

TCOに関しても610m恒温飼育群の両群は外気温低下と共にそれらの値は減少するが2400m高所飼育群および610m戸外飼育群の値は逆に外気温低下に伴いや、増加傾向が認められ、0℃ではLIC、LIDの両群との間に有意差が認められた。TCOにおいては全群とも暗所飼育の影響は認められない。

3. 各群の肩甲骨間褐色脂肪組織 (IBAT) 量の比較

Fig.3に各群の各々の動物の体重を横軸にIBAT量を縦軸に示した。IBAT量と体重との間には正の相関が認められた ($r=0.56$, $p<0.01$)。そして回帰直線 $Y=bX+a$ の上方には2400m高所飼育群および610m戸外飼育群のLOC群が位置し、逆に直線の下方に610m恒温飼育群および610m戸外飼育群のLOD群が位置した。体重に対するIBAT相対値 (mg/g) ではHC (2.37) > HD (2.29) > LOC (2.11) > LOD (1.91) > LIC (1.56) > LID (1.38) の順序の大きさとなり、動物の生息外気温と逆比例の関係を示した。しかし、各飼育場所における暗所飼育の影響はIBATの値を減少させる傾向を示したが、有意差までには至らなかった。なお

HC、HD、LOC、LODの4群とLIC、LIDの2群との間には有意差 ($p < 0.05$) が認められた。

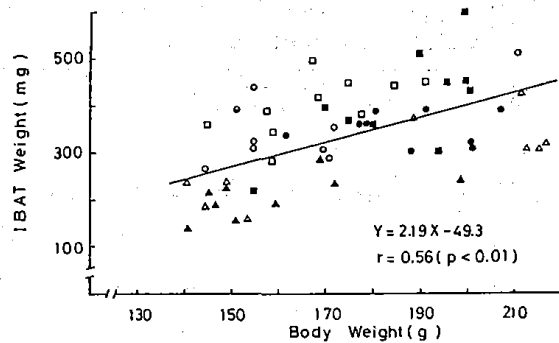


Fig.3. Relationship between interscapular brown adipose tissue (IBAT) weight and body weight in rats raised at Mt.Yatsugatake and Matsumoto. Symbols are the same as those in Fig. 1.

4. 各群の毛皮に関する比較

毛皮に関しては、全湿重量、全乾重量、毛重量、皮膚重量、水分重量、脂肪重量（皮脂＋皮下脂肪）などについて体重に対する相対値 (Table 2) および体重とそれぞれの毛皮量との相関 (Table 3) を示した。全毛

皮湿重量においては、LICが最大でLOCが最小値を示し、生息外気温との間には相関が認められない。しかし、暗所飼育による効果はLOD > LOC、HD > HCとなり各々有意差が認められた。全乾重量も全く同結果が得られた。毛の重量は、LODおよびLOCが低い値を示し他の4群と有意差となったが各群とも暗所効果は見られなかった。毛皮水分重量は、LOD > LOC ($P < 0.05$)

group	HC	HD	LOC	LOD	LIC	LID
Wet weight						
r	0.93	0.95	0.98	0.97	0.99	0.96
p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Dry weight						
r	0.90	0.86	0.86	0.91	0.99	0.94
p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Water weight						
r	0.84	0.90	0.95	0.98	0.97	0.97
p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Hair weight						
r		0.92	0.78	0.84	0.78	0.77
p		<0.001	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Skin weight						
r	0.99	0.81	0.90	0.84	0.98	0.93
p	<0.001	<0.05	<0.01	<0.01	<0.001	<0.001

r: correlation coefficients. Group names are the same as those in Table 1.

Table 3. Relationship between analyzed pelt weight and body weight

Table 2. Analyzed pelt weight to body weight

Group	HC	HD	LOC	LOD	LIC	LID
Wet weight(%)	17.1±0.8	17.8±0.4*	16.0±0.4	17.7±0.5 [#]	18.2±0.8	17.7±0.8
Dry weight(%)	8.3±0.5	8.9±0.4*	7.7±0.5	8.3±0.3 [#]	9.0±0.5	8.8±0.5
Water weight(%)	8.7±0.5	9.0±0.3	8.2±0.2	9.3±0.4 [#]	9.2±0.5	9.0±0.4
Fat weight(%)	1.5±0.1	1.9±0.2*	1.5±0.2	1.9±0.2 [#]	1.6±0.2	2.1±0.2※
Hair weight(%)	2.1±0.2	2.2±0.1	1.9±0.2	1.9±0.1	2.2±0.3	2.2±0.2
Skin weight(%)	4.5±1.0	4.7±0.3	4.3±0.5	4.6±0.3	5.3±0.8	4.5±0.4※

Values are means±SD. *: $p < 0.05$ vs HC, [#]: $p < 0.05$ vs LOC, ※: $p < 0.05$ vs LIC, NS: not significant. The number of animals in each group is 10. Group names are the same as those in Table 1.

となった。毛皮の脂肪重量は各飼育地で暗所飼育群の値が対照群の値を有意に上回った。毛皮の皮膚重量(全乾重量-毛重量)はLIC>LID($p<0.05$)を示したが、他の群の値はすべてLIDの値に近かった。上記の毛皮に関する絶対値と体重との相関は、脂肪重量を除く他の項目で極めて高い相関が認められた。

5. 酸素消費量と毛皮および褐色脂肪組織との相関

Table 4 に全マウスの外気温0℃の低温下で測定された酸素消費量と毛皮に関する重量および褐色脂肪組織重量との相関を求めた。毛皮のうち、湿重量、乾重量および毛の重量は酸素消費量と逆相関が認められた。しかし毛皮の水分、皮膚(残査)および脂肪量には酸素消費量との間に相関は認められなかった。なお各群における酸素消費量と各毛皮の重量との相関は殆ど認められなかった。

Pelt weight (g)	r	p
wet	-0.34	<0.05
dry	-0.44	<0.01
water	-0.25	NS
lipid	0.18	NS
hair	-0.32	<0.05
skin	-0.24	NS

r: correlation coefficient. NS: not significant.

Table 4. Relationship between analyzed pelt weight and oxygen consumption (VO₂) in all rats.

6. 酸素消費量と褐色脂肪組織重量との相関

Fig.4に全マウスの外気温0℃の低温下で測定された酸素消費量と褐色脂肪組織重量との相関を示した。両者の相関係数は $r=0.56$ ($p<0.01$)を示した。また各群における酸素消費量と褐色脂肪組織重量との相関係数(r)は0.25-0.60で有意差は認められなかった。

考 察

この実験の目的は熱産生に関しては、1.高所環境の影響、特に低い外気温が動物の熱産生におよぼす影響、2.暗所環境飼育が動物の熱産生におよぼす影響について観察することであり、続いて防熱機構に関しては、3.高所環境、特に低い外気温が毛皮などの断熱効果におよぼす影響、4.暗所飼育が動物の断熱性とのかわりについて研究し、更に5.熱産生と断熱性との関係までも検討することであった。言うまでもなく、高所環

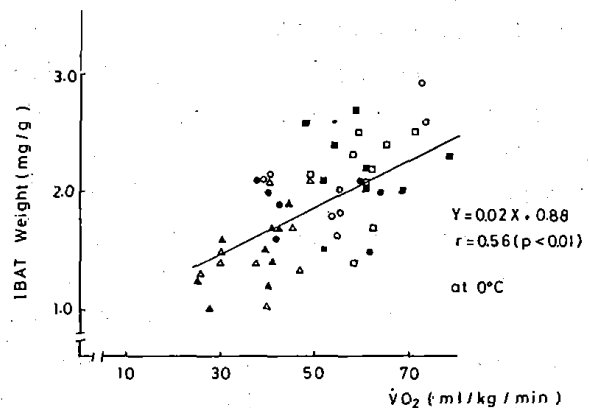


Fig.4. Relationship between interscapular brown adipose tissue (IBAT) weight and oxygen consumption (VO₂) measured at 0°C in rats raised at Mt.Yatsugatake and Matsumoto. Symbols are the same as those in Fig.1.

境では、低圧、低温の他に、日照時間も平地より短い。このような環境の異なる場所で馴化された動物の生理的性質を検討する際には、高地のみならず、平地および平地の実験室でも同様な飼育が必要となる。我々は前述した計6群から、熱産生および断熱性の問題について検討した。まず、高所飼育動物の熱産生は、低温環境下(0℃)における測定では平地飼育群の4群より高い代謝を示した。そして飼育外気温の低い群ほど酸素消費量が高いという結果を得た。これは以前行った実験結果と同結果であった⁷⁾。しかし、10℃以上の外気温測定では、戸外飼育対照群(LOC)が最大値を示した。この結果は戸外飼育により外気温だけでなく他の気象条件、例えば風などの影響が動物の代謝に影響をおよぼし、またLOC群の代謝の亢進は、体重の低下にも関係していると考えられた。もし動物の熱産生が外気温と風の影響を受けるならば、暗所飼育によるダンボールの覆いは、保温または断熱および断風効果ともなる。事実、暗所飼育群の熱産生の値はそれらの対照群より低い値を示している(Table 1)。また、動物の寒冷馴化の指標となる褐色脂肪組織重量においても暗所飼育群で低値を示した(Fig.3)。何れにせよ、暗所飼育により熱産生は増強しないと考えられた。

次いで防熱機構に関する問題である。野生動物では外気温の低い地域に生息する動物の毛皮に関する重量はすべて増加し¹⁾²⁾³⁾、それが寒さに対する適応となっている。しかしこの寒冷適応において、寒くなる冬季の日照時間については検討されていない。野生動物の被毛には季節変化がみられる⁸⁾。この原因として光、す

なわち日照時間を重視する研究者が多い。例えば、ヒツジの被毛の成長速度は光周期によってコントロールされ、人為的に日長を短縮すると冬毛へ、長くすると夏毛に移行する現象がみられる⁹⁾。一方、光の条件を同じにして環境温度の違いだけでジャンガリアンハムスター (*Phodopus sungorus*) の被毛の変化を調べてみると、低温条件下で飼育された群で冬毛に移行するのが早く、その量が大きかった¹⁰⁾。この結果は、環境温度も毛皮に大きな影響を与えていることを示す。我々の結果は、Table 2 に示すごとく、暗所飼育により対照群と比較して全毛皮湿重量、全毛皮乾重量および毛皮脂肪重量の項目で有意な重量の増加をみた。しかし毛(被毛)の重量には差は認められなかった。夏毛と冬毛の観察も行ったが、はっきりした差は認められなかった。環境温度の差からみた毛皮の変化も見いだせなかった (Table 3)。熱産生と断熱性との関係を見るとかなり興味深い関係がえられている。Table 4 で示したように、0℃の外気温で測定した酸素消費量と毛皮に関する重量との相関をみると、それらの項目は、酸素消費量と逆相関を示すものが多い。この意味は、寒冷環境下において、実験動物のラットでは熱産生と熱の断熱の増強が同時には起こらないことを示している。野生動物の場合には生息外気温が0℃以上では断熱性の発達が、また0℃以下の気温では熱産生が発達することが報告されている²⁾。これらの結果から考えて、動物の寒冷適応は実験動物および野生動物共に熱産生または断熱性のどちらかで行われているものと考えられる。そして今までの実験動物での寒冷適応は熱産生が主になり、野生動物では逆に断熱性の適応が主になってい

るといえる。断熱性に関して松果体ホルモンのメラトニンは被毛に深く関与し、メラトニンを *Phodopus sungorus* に投与すると長日条件でも夏毛の移行を抑制することが知られている¹¹⁾。また屋内飼育と屋外飼育の違いで熱産生と断熱性が逆の結果となる報告がある。これは冬ラットの熱産生が夏ラットより熱産生が低く、逆に毛の断熱性が冬ラットで増強した⁴⁾という結果である。これらの結果は、実験室の結果からは考えられないものであり、フィールドにおける適応において種々の環境要因があること、更に実験室のみの結果だけで適応問題を論じえないものがあり、一つ一つの条件を自然界および実験室の両面から検討していく必要があることを示している。なお、本実験では寒冷馴化において、熱産生の指標と考えられている褐色脂肪組織重量と酸素消費量との間には正の相関が認められた。これは寒くなると褐色脂肪組織重量が増加しそれと共に酸素消費量も増加するということをあらわし、本実験のラットの寒冷適応には熱産生の増強が有効に働いたものと解釈された。この結果は、寒くなると毛皮などの断熱性が増強する野生動物の適応と異なっている。また光を与えない暗所飼育も動物の被毛を増加させなかったが、毛皮の脂肪量を増加させていた。この脂肪量の増加は動物の全毛皮量を増加させ更に寒さに対する断熱性を増強させる効果が指摘されている³⁾。しかしながら、前述したように暗所飼育群の熱産生は対照群より減少している。このように動物の寒さに対する適応は熱産生と防熱のバランスによって行われ、その関係は種々な環境要因によって左右されているのであろう。

文 献

- 1) 柳平坦徳、内川公人：小哺乳類における産熱および防熱機構(9)アカネズミの毛皮重量と季節変化、成長、26：19-27, 1987.
- 2) Yanagidaira, Y., Ueda, G., Motoyama, T., Sakai, A. and Yonekawa, M. : Climatic adaptation in thermogenesis and thermal insulation in wood mice (*Apodemus argenteus*). *Jpn. J. Physiol.*, 39 : 229-240, 1989.
- 3) Yanagidaira, Y., Sakai, A., Takeoka, M., Asano, K. and Ueda, G. : Factors for thermal insulation on Climatic adaptation in three species of wild rodents. In *High-altitude Medical Science*, Ueda, G., Kusama, S. and Voelkel, N.F. (eds) Shinshu Univ. Press (印刷中).
- 4) Heroux, O., Depocas, F. and Hart, J.S. : Comparison between seasonal and thermal acclimation in white rats. 1. Metabolic and insulative changes. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 : 473-478, 1959.
- 5) 柳平坦徳：低温および低圧変化に対する高所順応ラットの産熱反応。日本生理誌45：134-144, 1983.
- 6) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S. : A simple method for the isolation and purification and of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226 : 497-509, 1957.
- 7) Yanagidaira, Y., Ueda, G., Yonekawa, M. and Kaneko, M. : Thermogenesis in rats reared at altitude of

2,400m. J. Growth, 28 : 27-36, 1989.

- 8) Hart, J.S. : In Comparative Physiology of Thermoregulation, Whittow, G.C. (ed), Academic Press, New York, pp 2-149, 1971.
- 9) Morris, L.R. : Photoperiodicity of seasonal rhythm of wool growth in sheep. : Nature, 190 : 102-103, 1961.
- 10) Figala, J., Hoffmann, K. und Goldau, G. : Zur Jahresperiodik beim Dsungarischen Zwerghamster *Phodopus sungorus* Pallas, Oecologia (Berl.), 12 : 89-118, 1973.
- 11) Hoffman, K. : The influence of photoperiod and melatonin on testis size, body weight, and pelage colour in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). J.Comp. Physiol., 85 : 267-282, 1973.