

褐色脂肪組織における不飽和脂肪酸、特に
ドコサヘキサエン酸の意義に関する実験的研究

(課題番号 09470014)

平成9年度～平成11年度科学研究費補助金 (基盤研究(B)(2))

研究成果報告書

平成12年3月

研究代表者 黒島 晨 汎

(旭川医科大学医学部教授)

はしがき

本研究は平成 9～11 年度文部省科学研究費補助金〔基盤研究（B）〕を受けて行われた。

研究組織

研究代表者 : 黒島 晨汎 (旭川医科大学・医学部・医学科・教授)
研究分担者 : 大日向 浩 (旭川医科大学・医学部・医学科・助手)

研究経費

平成 9 年度	4,300 千円
平成 10 年度	2,300 千円
平成 11 年度	4,000 千円
計	10,600 千円

研究発表

(1) 学会誌等

1. Saha, S.K., Ohno, T., Ohinata, H. and Kuroshima, A. : Effects of nitric oxide synthase inhibition on phospholipid fatty acid composition of brown adipose tissue. : *Jpn.J.physiol.* 47(5):477-480. 1997
2. Ohinata, H., Saha, S.K., Ohno, T., Hata, N., Misawa, Y., and Kuroshima, A. : Effect of dietary docosahexaenoic acid on in vitro thermogenesis and fatty acid compositions of brown adipose tissue. *Jpn.J.Physiol.* 48(3):189-196. 1998
3. Saha, S.K., Ohinata, H., Ohno, T. and Kuroshima, A. : Thermogenesis and fatty acid composition of brown adipose tissue in rats rendered hyperthyroid and hypothyroid — with special reference to docosahexaenoic acid. *Jpn.J.Physiol.* 48(5):355-364. 1998
4. 大日向 浩、大野 都美恵、Saha, S.K.、黒島 晨汎 : 熱産生器官—褐色脂肪組織脂肪酸組成の適応変化. *臨床体温.* 16(1):22-29. 1998
5. Saha, S.K., Ohno, T., Ohinata, H., and Kuroshima, A. : In vitro thermogenesis and phospholipid fatty acid composition of brown adipose tissue in fasted and refed rats. *Jpn.J.Physiol.* 49(4):345-352. 1999
6. Saha, S.K., Ohno, T., Tsuchiya, K. and Kuroshima, A. : Adaptive modification of membrane phospholipid fatty acid composition and metabolic suppression of brown adipose tissue in heat-acclimated rats. *Int.J.Biometerol.* (in press). 2000

(2) 口頭発表

1. Kuroshima, A., Ohinata, H., Saha, S.K. and Ohno, T. : Adaptive changes in fatty acids profiles of thermogenic tissue brown fat. Fifth World Congress International Society for Adaptive Medicine (ISAM) . p134. 1997
2. Saha, S.K.、大日向 浩、黒島 晨汎、大野 都美恵 : 一酸化窒素 (NO) と褐色脂肪組織 (BAT) の DNA 量、熱産生反応、脂肪酸組成. *適応医学.* 1(1):32. 1997
3. 大日向 浩、Saha, S.K.、黒島 晨汎、大野 都美恵、畑 憲明、三澤 嘉久 : ラット褐色脂肪組織脂肪酸組成の適応性変化—特にドコサヘキサエン酸について— . *適応医学.* 1(1):32. 1997
4. 黒島 晨汎、大日向 浩、Saha S.K.、大野 都美恵 : 非ふるえ熱産生とドコサヘキサエン酸 (DHA) . 長崎大学熱帯医学研究所共同研究報告集平成

9年度. p115. 1998

5. Ohinata, H., Saha, S.K., Ohno, T. and Kuroshima, A. : Effects of a diet deficient in docosahexanoic acid (DHA) on nonshivering thermogenesis.. *Jpn.J.Physiol.* 48(suppl):S217. 1998
6. 大日向 浩、Saha, S.K.、黒島 晨汎、大野 都美恵、畑 憲明、三澤 嘉久 : ラット非ふるえ熱産生におけるドコサヘキサエン酸の食餌性欠乏の影響. *適応医学.* 2(1):63. 1998a
7. 大日向 浩、Saha, S.K.、大野 都美恵、黒島 晨汎 : ラット非ふるえ熱産生におけるドコサヘキサエン酸の食餌性欠乏の影響. *臨床環境医学.* 7(2):120. 1998b
8. 黒島 晨汎、Saha S.K.、大野 都美恵、土屋 勝彦 : 暑熱馴化褐色脂肪の脂肪脂肪酸組成と *in vitro* 熱産性能. 長崎大学熱帯医学研究所共同研究報告集平成10年度. p111. 1999
9. Kuroshima, A., Hashimoto, M., Ohinata, H., Kikuchi-Utsumi, K., Saha, S.K., Gao, B. and Ohno, T. : Some facets of brown adipose tissue physiology. *The 76th Annual Meeting of Advances in Environmental Physiolog.* p23. 1999a
10. 大日向 浩、Saha, S.K.、黒島 晨汎、大野 都美恵 : 絶食・再摂食時の褐色脂肪組織熱産生と膜リン脂質脂肪酸組成の変化. 第76回日本生理学会大会予稿集. p165. 1999a
11. Saha, S.K.、大野 都美恵、土屋 勝彦、黒島 晨汎 : 暑熱馴化ラット褐色脂肪組織 (BAT) の熱産生及びリン脂質脂肪酸組成一特にドコサヘキサエン酸 (DHA) の変化について. 第76回日本生理学会大会予稿集. p162 IP194. 1999
12. Kuroshima, A., Ohno, T., Saha, S.K. and Ohinata, H. : Effects of fasting and refeeding on thermogenic response and fatty acid profiles of brown adipose tissue.. *Programme/Abstracts XII International Symposium Pharmacology of Thermoregulation.* Board.13. 1999b
13. Saha, S.K., Ohno, T., Tsuchiya, K., Kuroshima, A. : Influence of heat acclimation on rat brown adipose tissue thermogenesis and phospholipid fatty acid composition.. *Programme/Abstracts XII International Symposium Pharmacology of Thermoregulation.* Board.17. 1999b
14. 大日向 浩、Saha, S.K.、高 弼虎、内海 計、黒島 晨汎 : ラット褐色脂肪組織熱産生能に対する生後環境温度の効果. *日本生気象学会雑誌.* 36(3):50. 1999b
15. 黒島 晨汎、大日向 浩、Saha S.K.、高 弼虎、内海 計 : 生後飼育温度

の褐色脂肪組織機能への影響. 長崎大学熱帯医学研究所共同研究報告集平成11年度. 2000 (印刷中)

(3) 出版物

1. Kuroshima, A., Ohinata, H., Kikuchi-Utsumi, K. Saha, S.K., Gao, B., Hashimoto, M. And Ohno, T. : Brown adipose tissue and nonshivering thermogenesis in stressful states. *Thermotherapy: Principles and Practice –Applications in Neoplasia, Inflammation, and Pain –*. ed. by Kosaka, M., Sugahara, T., Schmidt, K.L. and Simon, E.. springer-Verlag Tokyo, Inc.. (2000y in press)

研究成果

褐色脂肪組織（BAT）は熱産生を主要な機能とする唯一の器官である。その意義は代謝性寒冷馴化における体温調節性熱産生（非ふるえ熱産生）の主要部位として働くことにあるが、さらに過食による余剰カロリーを熱産生として散逸させてエネルギー平衡に、またストレスへの適応に熱産生の促進による代謝亢進に関与していると考えられている。従ってBATは生体のエネルギー代謝の適応に広く与る器官として注目されており、その調節機序を明らかにすることは生体の適応の理解にとって重要である。BATの熱産生機能は主としてこの組織に豊富に分布する交感神経のノルアドレナリンによること、またその著しい熱産生能がBATミトコンドリア内膜に特異的に存在する酸化リン酸化の脱共役タンパク質1（UCP1）によって発現していることが解明されている。一方われわれはこのようなBATの熱産生の亢進に膜リン脂質脂肪酸、特にリノール酸、アラキドン酸の増加による不飽和度の増大が密接に関係することをすでに知られている寒冷馴化時以外に、非温熱性拘束ストレスの反復負荷時においても同様の現象のみられることを示し、さらにBATの *in vitro* 熱産生と不飽和脂肪酸の中で特に n-3 多不飽和脂肪酸・ドコサヘキサンエン酸（DHA）との間に密接な関係のあることを認めた（Ohno, T. et al. *Jpn. J. Physiol.* 46:265-270, 1996）。すでにDHAは脳や網膜の発達と機能維持に不可欠の脂肪酸であることは明らかにされているが、また代謝活性の高い恒温動物では代謝活性の低い変温動物にくらべ組織リン脂質DHAレベルが高く、恒温動物で心拍数と心筋リン脂質DHAレベルとの間に正の相関関係が示されており、膜リン脂質DHAが細胞の代謝活性に関与していることが示唆されている。

本研究ではBATの代謝活性と膜リン脂質DHAとの関係をさらに種々の実験条件下で検討することにより、熱産生という生体の基本的機能におけるDHAの意義を解明することを目的として行われた。得られた結果はDHAがBATの熱産生機能の制御因子の一つとして重要であることを推測させるものであり、さらにミトコンドリアレベルでの分子機構との関連を究明することによりDHAの作用機序を明確にすることが今後の検討課題である。

以下の実験結果は全てラットの肩胛骨間BATリン脂質分画において得られたものである。また熱産生は碎片BATの酸素消費量で推定した。

1. BATリン脂質DHAの生後変化（大日向等, 1997）

4日齢および14日齢新生期ラットを12週齢の成熟ラット比較すると不飽和脂肪酸が高く、不飽和の程度を示す不飽和指数、不飽和脂肪酸/法話脂肪酸 比

が高値を示した。DHAは4日齢で最も高く、成長とともに漸減するBATの *in vitro* 熱産生反応 (Yahata & Kuroshima Biol. Neonate 64:53-61, 1993) に呼応して漸減した。アラキドン酸 (AA) レベルも同様の変動をみせた。

2. DHA添加食の効果 (Ohinata et al., 1998)

4週間さらに16週間の食餌性DHAはBAT重量、DNA含量を変化させず、DHAを増大させたが、AAは減少させた。*in vitro* 熱産生反応のは4週間では変化せず、16週間ではむしろ低下した。

3. DHA欠乏食の効果 (黒島等, 1998 ; 大日向等, 1998a, b)

DHA欠乏食はDHAを減少させたが、AAは変化せず、*in vitro* 熱産生反応にも影響しなかった。しかし全身性非ふるえ熱産生 (ノルアドレナリン熱産生) は低下した。

4. DHA+AA添加食の効果 (未発表)

DHAのBAT熱産生促進効果に同時にAAのレベル上昇が必要である可能性を確かめるために両脂肪酸の同時添加食の効果を検討した。両脂肪酸が増加したが、*in vitro* 熱産生には影響しなかった。しかしUCP1 mRNA発現の増大がみられた。

5. 一酸化窒素 (NO) 合成阻害の効果 (Saha 等, 1997 ; Saha et al., 1997)

われわれはNOがBAT血流量の増大、代謝活性の促進に関係していること示唆している (Nagashima et al. Life Sci. 54:17-25, 1994; Saha et al. Jpn. J. Physiol. 46:375-382, 1996) ので、NO合成阻害剤 (L-NAME) 投与の効果を検討した。L-NAMEはDHAは変化させなかった。NO欠乏は組織萎縮によって熱産生を抑制すると推測された。

6. 絶食と暑熱馴化の影響 (Saha et al., 1999 ; Saha et al., 2000 ; Saha 等, 1999 ; Kuroshima et al., 1999a, b ; 黒島等, 1999 ; 大日向等, 1999a ; Kuroshima et al., 2000)

絶食と暑熱馴化はともに *in vitro* 熱産生を抑制して、同時にDHAを減少させた。また基礎状態およびノルアドレナリン刺激時の熱産生とDHAの間に正の相関が認められた。

7. 甲状腺機能の影響 (Saha et al., 1997)

甲状腺機能低下 (methimazole 投与) はDHA、AAを減少させて、*in vitro* 熱産生を抑制した。一方甲状腺機能亢進 (triiodothyronine 投与) はDHAを変化させなかったがBAT増殖 (DNA含量増加) をもたらし熱産生を促進した。

8. 生後飼育温度の影響 (大日向等, 1999b ; 黒島等, 2000)

出生後10週間低温 (10℃) で飼育したラットは温暖下 (25℃) で飼育したものに比べて20週後、さらに1年後においてBAT増殖 (DNA含量増加) による *in vitro* 熱産生および全身の非ふるえ熱産生が大であった。この結果は成長

期の幼若時の寒冷馴化は持続性を有し、恐らく一生の間持続する効果を及ぼすことを示す。低温飼育群ではDHAとAAレベルには変化が認められなかった。またUCP1、2、3のmRNAの発現にも変化がなかった。

以上の研究成果はエネルギー代謝の適応に働くBAT機能の調節に膜リン脂質脂肪酸のDHAが制御因子の一つである可能性を示すものである。今後さらにBAT熱産生の場合であるミトコンドリアレベルでの検討を進めることによってDHAの作用機構を明らかにしたい。