

学位論文題名

褐色脂肪組織における熱産生とグルコース利用の交感神経性調節

学位論文内容の要旨

褐色脂肪組織（brown adipose tissue；BAT）は、化学的熱産生の特異的部位であり、寒冷暴露や冬眠からの覚醒時の非ふるえ熱産生や過食時に余剰のエネルギーを浪費するための熱産生を行っている。本研究では、BATでの熱産生とグルコース利用に対する交感神経の役割を明らかにする目的で、ラットを用いて、この組織への非代謝性グルコース誘導体である2-deoxyglucose（2-DG）の取り込みを *in vivo* で調べた。更に、交感神経によるグルコース輸送の促進機構について、グルコーストランスポーターに焦点を当てて検討し、以下の結果を得た。

1) ラットを絶食させた後、再摂食させると、BATへの2-DGの取り込みは、心臓、骨格筋及び白色脂肪組織と同様に、血中のインシュリン濃度の上昇に対応して増加した。しかし、寒冷に暴露した場合は、血中のインシュリン濃度はわずかに低下しているにもかかわらず、BATでのみ特異的に2-DG取り込みの増加が認められた。一方、BATを支配する交感神経を外科的に切除すると、再摂食の効果は影響を受けないのに対し、寒冷暴露の効果はほぼ完全に抑制された。これらの結果から、BATにはインシュリン非依存性で、交感神経によって活性化されるような、独特的のグルコース輸送系が存在すると推察された。

2) 麻酔によって誘発される低体温からの回復時に、BATの組織温度の上昇が体温の上昇に先立って起こり、回復に至るまで常に体温より高い温度で推移したことから、BATの熱産生が、寒冷環境下での体温の維持のみならず、低体温からの回復にも寄与していることが示唆された。この時2-DGの取り込みも調べたところ、体温回復期に顕著な増加が観察された。このような変化は、交感神経を切除するといずれも消失した。これらの結果も、BATにおけるグルコース利用の亢進が、交感神経を介し熱産生と並行して発現するとの考えを支持するものである。

3) BATの直近で交感神経を電気的に刺激した場合、2-DG取り込みは刺激頻度に応じて増加し、寒冷刺激に対する反応を再現できた。同様に、交感神経の伝達物質であるNEを血中に投与した場合も、投与量に依存した増加が観察され、交感神経のグルコース利用促進作用が直接証明された。更に、2-DGの取り込みと組織温度の上昇速度に有意な相関が認められたこと、

及び上記 1), 2) との結果を総合して, BAT における 2-DG の取り込みは, 熱産生の鋭敏で確実な指標であると結論した。

4) 交感神経ブロッカーを用いた検索で, 神経刺激や NE 投与の効果が  $\beta$  ブロッカーによりほぼ完全に抑制され,  $\alpha$  ブロッカーには影響されないことが明らかとなった。また, 低体温からの回復期にみられる 2-DG 取り込みの増加も,  $\beta$  ブロッカーで抑制されることから, 熱産生と並行して起こるグルコース利用の亢進は, 交感神経の終末より放出される NE の  $\beta$  作用によっていることが判明した。

5) インシュリンは, 細胞内プールに存在するグルコーストランスポーターを細胞膜上へ急速に移動させ, そこでの数を増加させることにより糖輸送の増大をもたらす。NE の 2-DG 取り込み亢進作用が, これと同様の機構によっているか否か調べるために, BAT 細胞膜画分のグルコーストランスポーターを, グルコース輸送の拮抗阻害剤であるサイトカラシン B の結合によって測定した。NE を投与しても, 細胞膜画分におけるサイトカラシン B の結合部位数及び親和性, ともに変化は認められなかった。更に, BAT に存在する 2 種類のグルコーストランスポーター, 即ち, インシュリン感受性臓器に特徴的な 4 型 (GLUT 4) と広く全身臓器に存在し定常的な糖輸送を担う 1 型 (GLUT 1) に対して作製した特異抗体を用いた検討も行った。その結果, GLUT 1 と GLUT 4 の量は, NE の投与によって, 細胞膜画分及び細胞内プールであるミクロゾーム画分のいずれにおいても全く変化しないことが判明した。これらの結果は, NE がインシュリンとは全く異なるメカニズムによってグルコースの利用を促進していることを示唆するものである。

6) 短期間 (4 時間) の寒冷暴露で, 2-DG 取り込みは約 4 倍に増加するものの, NE 投与の場合と同様に, GLUT 1 と GLUT 4 の細胞内分布には変化が認められなかった。しかし, 数日間寒冷に暴露すると, GLUT 1 の量は変化しないにもかかわらず, GLUT 4 は BAT でのみ 3 ~ 4 倍に増加した。なお, 交感神経を予め切除した場合, GLUT 4 の増加は完全に消失した。従って, 寒冷暴露が長期間にわたると, 交感神経の作用を介して GLUT 4 の合成が BAT で特異的に促進され, これがグルコース利用の亢進に寄与していると結論した。

## 学位論文審査の要旨

主査 教授 齊藤 昌之  
副査 教授 菅野 富夫  
副査 教授 中里 幸和  
副査 助教授 首藤 文榮

褐色脂肪組織（BAT）は、化学的熱産生の特異的部位であり、寒冷暴露や冬眠からの覚醒時の非ふるえ熱産生や過食時に余剰のエネルギーを散逸するための熱産生を行っている。申請者は、BATでの熱産生とグルコース代謝の神経性調節様式を明らかにする目的で、実験動物としてラットを用い、種々の生理・病理的条件下で BAT でのグルコース利用を測定し、交感神経の役割を確立した。更に、交感神経によるグルコース利用の促進機構について、グルコース輸送担体（GLUT）に焦点を当てて検討した。これをまとめた本論文は、和文46頁からなり、参考論文7編を付している。その概要は以下の通りである。

ラットに非代謝性グルコース誘導体である 2-deoxyglucose (2-DG) を投与し、BATへの取り込み量からグルコース利用速度を算出したところ、(1) 摂食、(2) 寒冷暴露及び(3) 麻酔による低体温からの回復時に増加した。これらの増加に対して、交感神経の外科的切除は(1)の場合は影響しないが、(2) 及び(3) の場合は消失させた。また、(1) の場合、血中インシュリン濃度は上昇し、これに対応して心臓、骨格筋及び白色脂肪組織（WAT）におけるグルコース利用も増加したが、(2) 及び(3) ではこのような変化は認められなかった。従って、BAT には、インシュリン非依存性で交感神経によって活性化されるような、独特のグルコース利用調節系が存在すると推察された。

次に、BAT でのグルコース利用に対する交感神経の促進作用を直接証明するために、(4) 末梢で交感神経を電気的に刺激したり、(5) 交感神経の伝達物質であるノルアドレナリン（NA）を血中に投与して、2-DG の取り込みを調べた。(4)、(5) いずれの場合も、刺激頻度あるいは投与量に依存した増加が観察された。更に、アドレナリン作動性受容体遮断薬を用いた薬理学的な検討を加え、 $\beta$ 受容体の関与を明らかにした。これらの結果から、交感神経節後線維終末より放出される NA は、 $\beta$ 受容体を介して BAT でのグルコース利用を促進すると結論された。

BAT でのグルコース利用については、細胞膜でのグルコース輸送が律速段階である。そこで最後に、GLUT に着目して NA の作用や寒冷暴露の影響を検討した。BAT に存在する 2 種類

の GLUT (GLUT 1 と GLUT 4) に対して作製した特異抗体を用いて BAT 膜標品の GLUT 量を測定した結果、NA の投与や短時間の寒冷暴露では GLUT の細胞内分布は変化せず、インシュリンとは異なる機構によってグルコース輸送が増加することが示唆された。この考えは、GLUT とサイトカラシン B との結合実験での成績からも裏付けられた。数日間寒冷に暴露すると、GLUT 1 の量は変化しないにもかかわらず、GLUT 4 は 3 ～ 4 倍に増加し、この増加は交感神経を予め切除することにより消失した。一方、心臓、骨格筋及び WAT では変化は認められなかった。従って、寒冷暴露が長期間にわたると、交感神経の作用を介して GLUT 4 の合成が BAT で特異的に増加し、これがグルコース利用の亢進に寄与していると結論された。

以上のように、申請者は、BAT におけるグルコースの利用が、熱産生と同様に交感神経によって直接支配されていることを明らかにし、更にその機構が、他組織にみられる既知のものとは異なり BAT に独特のものであることを示した。従来、グルコースの利用亢進因子については、インシュリンが知られていたが、BAT ではこれとは別に NA が亢進作用を持つとの成績は、独創的であり糖代謝調節の研究領域への寄与も大きい。よって審査員一同は、申請者志水泰武氏が博士（獣医学）の学位を受ける資格を有するものと認める。