体育学研究, 38 : 47-57, 1993.

高脂肪食ラット褐色脂肪組織の熱産生に及ぼすカプサイシンの影響

辻 本 尚 弥¹⁾ 谷 健 二²⁾ 石 河 利 寛³⁾

Effects of capsaicin on brown adipose tissue thermogenesis in rats fed a high-fat diet

Hisaya Tsuzimoto¹ Kenji Tani² and Toshihiro Ishiko³

Abstract

Effects of capsaicin, a pungent principle of hot red pepper, were studied in the brown adipose tissue of rats fed a high-fat diet. Rats were divided into three groups : 1) nonpurified diet group (NP : n=12), 2) high-fat diet group (HF : n=10) and 3) high-fat plus capsaicin diet group (HFC : n=10). NP group was fed 15. 4 g diet/day. HF and HFC groups were fed 10. 5 g diet/day. Rats were fed each diet for 10 days.

In body weight, NP group was heavier than HF and HFC groups. HF group was heavier than HFC group. In weight of the interscapular brown adipose tissue (IBAT), HF group was heavier than NP and HFC groups; HFC group was heavier than NP group. In the IBAT tissue weight/100 g body weight, HF group was heavier than NP and HFC groups. But no difference was observed between HF and HFC groups. In both of the epididymal and the perirenal adipose tissue weights, HF group was heavier than NP and HFC groups. No difference was observed between NP and HFC groups. Serum glucose level of HF and HFC groups was lower than that of NP group. Serum free fatty acid level of HF and HFC groups was higher than that of NP group. In oxygen consumption, HF group was lower than NP group and HFC group was lower than NP group when expressed per 100 mg wet weight; HFC group was higher than HF group when expressed per 100 mg wet weight and per 10 mg protein, respectively. Significant negative correlations were found between the IBAT oxygen consumption per 10 mg protein per hour and the epididymal or the perirenal adipose tissue weight.

These results indicated that capsaicin lowers the epididymal and the perirenal adipose tissue weights and prevents decrease of the IBAT oxygen consumption as the result of high-fat diets effect.

Key words : Brown adipose tissue, Capsaicin, Adipose tissue, High-fat diet, Rat

(Japan J. Phys. Educ., 38 : 47-57, May, 1993.)

-
- 1) 中京大学大学院
〒470-03 愛知県豊田市貝津町床立101
 - 2) 静岡大学教育学部
〒422 静岡県静岡市大谷836
 - 3) 中京大学
〒470-03 愛知県豊田市貝津町床立101

1. Graduate School of Physical Education (Doctor Course), Chukyo University. Tokodate, Kaizu-cho, Toyota-shi, Aichi (470-03)
2. Faculty of Education, Shizuoka University. Ouya, Shizuoka-shi, Shizuoka (422)
3. School of Physical Education, Chukyo University. Tokodate, Kaizu-cho, Toyota-shi, Aichi (470-03)

キーワード：褐色脂肪組織，カプサイシン，脂肪組織，高脂肪食，ラット

I 緒 言

褐色脂肪組織 (Brown Adipose Tissue : BAT) は、エネルギー源としての脂肪を貯蔵する白色脂肪組織 (White Adipose Tissue : WAT) と違い体熱産生を活発に行う機能を持っている²¹⁾。そのため、摂食により熱産生が上昇し、エネルギー消費が高まる食餌誘発性体熱産生 (Diet-Induced Thermogenesis : DIT) の主要な熱産生器官であり、体内の余剰エネルギーを消費する役割を持っている^{31,34)}、ラットで BAT を除去した場合に、体脂肪の蓄積が高くなるとする報告があり²⁸⁾、BAT の機能不全は肥満につながる危険性が十分にある¹⁴⁾ことから、エネルギー消費からみて BAT は重要な器官である。BAT は自律神経の支配を受け⁵⁾、その熱産生も、自律神経系¹⁶⁾に調節されており、自律神経末端から分泌されるノルアドレナリンにより熱産生が高まることが知られている²¹⁾。また、内分泌系の影響も受け副腎髄質から分泌されるアドレナリンや甲状腺から分泌されるチロイドホルモンなど種々のホルモンにより熱産生が高まることが知られている^{7,32)}。

最近、とうがらしの辛味成分であるカプサイシンの研究²⁰⁾で、Kawada et al. は、カプサイシン添加の高脂肪食で飼育したラットでは、脂質の代謝回転が増大し体脂肪蓄積が抑制されたと報告し²²⁾、また、高脂肪食で飼育したラットへの1回のカプサイシン投与により、全身の酸素消費量が高まったと報告している²³⁾。Watanabe et al. は、ラットで1回のカプサイシン投与により副腎髄質からのカテコラミンの分泌が引き起こされ、血清グルコースレベルが上昇し⁴⁵⁾全身のエネルギー代謝が亢進する⁴⁶⁾と報告している。さらに、彼らはこれらカプサイシンの作用には中枢神経系が関与していることも報告している⁴⁷⁾。これらのことから、カプサイシンは、中枢神経から交感神経-副腎髄質系に作用し、食後の全身の代謝を亢進すると考えられる。ラットでは食後の全身の代謝亢進には BAT が主体的な関与をしており、カ

プサイシンと BAT の関連について明らかにする必要があると考えられる。

そこで、本研究では、カプサイシンが、高脂肪食で飼育したラットの BAT の熱産生に及ぼす影響を明らかにするために、肩甲骨間 BAT を用いて、in vitro での酸素消費量の測定、および組織の重量と構成成分等から検討した。

II 方 法

1. 実験動物及び飼育方法

実験には、生後8週令の J. c. 1-SD 系 (日本クレア株式会社) 雄ラット (体重 260—290 g) 32匹を用い、ステンレス製ワイヤーケージにて個別に

Table 1. Composition of high-fat and high-fat + capsaicin diets¹⁾

Ingredients	High fat diet (%)
Casein ²⁾	10
Starch ²⁾	40
Sucrose ²⁾	10
Lard ²⁾	30
Soybean oil ³⁾	5
Mineral mixture ⁴⁾	2
Vitamine mixture ⁵⁾	1
Cellulose ²⁾	2
Capsaicin ⁶⁾	—

¹⁾Nonpurified diet was commercial (MF, Oriental Yeast Co., Tokyo, Japan.). ²⁾Oriental Yeast Co., Tokyo, Japan. ³⁾Wako Pure Chemical Ind., Osaka, Japan. ⁴⁾Supplied in miligrams/kilogram diet (except as noted) : CaHPO₄ · 2H₂O, 2.91 g; KH₂PO₄, 5.14 g; NaH₂PO₄, 1.87 g; NaCl, 0.93 g; Calcume-lactate, 7.02 g; Iron-citrate, 0.64 g; MgSO₄, 1.43 g; ZnCO₃, 22; MnSO₄ · 4-6H₂O, 24; CuSO₄ · 5 H₂O, 6 g; KI, 2. ⁵⁾Supplied in miligrams/kilogram diet : (except as noted) : vitamine A acetata, 10 (IU); vitamine D₃, 0.025 (IU); α-tocopheryl · acetate, 50; vitamine K₃, 52; thiamin · HCl, 1; riboflavin, 40; pyridoxine · HCl, 8; cabalamin, 0.005; ascorbic acid, 300; d-biotin, 0.2; folic acid, 2; d-calcium pantothenate, 50; p-aminobenzoic acid, 50; nicotinic acid, 60; inositol, 60; choline chloride, 2000. ⁶⁾Added in 0.014% diet in place of equal weight of starch in high fat plus capsaicine (98% purity) diet. Purchased from SIGMA. CHEMICAL COMPANY, U. S. A..

飼育した。飼育室内は、室温 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ に維持し、06—18時を明期、18—06時を暗期とする12時間の明暗サイクルとした。飲水は自由摂取とした。体重は毎日17時に測定し、給餌は毎日18時とした。ラットは、新しい環境に慣れさせるためと、実験食開始時の初期体重を揃えるために、飼育開始日より3—5日間、Nonpurified Diet (MF, Oriental Yeast Co., Tokyo, Japan)を ad libitum に与えて飼育した。その後ラットの平均体重がほぼ等しくなるように、Nonpurified 食群 (NP 群) 12匹、高脂肪食群 (HF 群) 10匹および高脂肪+カプサイシン食群 (HFC 群) 10匹の3群に分けて10日間実験食にて飼育した。実験食の調合について、高脂肪食及び高脂肪+カプサイシン食は、表1に示した成分を調合して作製した。Nonpurified 食は市販の粉末食を用いた。カプサイシンは、同量の食餌成分中の澱粉と置きかえて添加し、添加量は、食餌重量の0.014%とした¹⁸⁾。摂食量は、カロリーをそろえるために Kawada et al. の報告²²⁾に準拠して、10日間一律に、Nonpurified 食は、15.4 g、高脂肪食と高脂肪+カプサイシン食は、各々10.5 gとした。飼育中ラットは、規定された摂食量のほぼすべてを食べ、3群間で摂取カロリーに差はなかった。

2. 実験方法

10日間上記の実験方法にて飼育した後、1夜絶食させたラットを実験日の午前10時から11時の間に、体重計測の後に、断頭屠殺した。体幹血液採取後、直ちに室温にて、肩甲骨間褐色脂肪組織 (Interscapular Brown Adipose Tissue : IBAT) を摘出し続いて氷上にて開腹、肝臓、副睾丸脂肪組織と腎周囲脂肪組織(両側)を摘出し、組織重量を秤量した。IBAT 全量からグリコーゲン含量測定のためのサンプルをとり、残りを酸素消費量の測定とタンパク質濃度の測定に用いた。体幹血液は、氷冷下で1時間放置した後、3000 rpm ($1600 \times g$) で 4°C 、20分間遠心して血清を分離し、測定まで -40°C にて凍結保存した。血清は、自動分析装置 (HITACHI—7050形) を用い、血清グルコース、血清遊離脂肪酸 (Free Fatty Acid : FFA) 濃度、血

清中性脂肪 (Triacylglycerol : TG) 濃度および血清総コレステロール濃度を測定した。血清グルコース濃度は、Hengarthner and Zuberの方法に従った¹³⁾。血清 FFA 濃度は、清水らの方法に従った⁴⁰⁾。血清 TG 濃度は、Spayd et al.の方法に従った⁴²⁾。血清総コレステロール濃度は、Allain et al.の方法に従った²⁾。

3. IBAT 酸素消費量の測定

IBAT 酸素消費量は、in vitro で一組織について二回測定した。IBAT の全湿重量からグリコーゲン含量測定のためのサンプルを取った残りの組織をほぼ二等分し、それぞれを酸素消費量測定用容器の Krebs-Ringer-bicarbonate buffer ($1/2 \text{ Ca}^{2+}$), pH 7.4, 4 ml 中に入れ、はさみにて細かくチョップした後、 O_2 アップテスター (6C, 大洋科学工業 K.K.) にて酸素消費量を測定した。炭酸ガス吸収剤としては、20% KOH を用いた。測定は 37°C 恒温水槽に容器を投入、30分のプレインキュベーション後、10分毎に3回行った。その測定値より回帰直線の式を求め、1時間あたりの酸素消費量を算出し、二回の測定値を平均して、それを IBAT 酸素消費量とした。酸素消費量は、100 mg 湿重量あたり ($\mu\text{l}/100 \text{ mg wet tissue/h}$)、10 mg タンパク質あたり ($\mu\text{l}/10 \text{ mg protein/h}$)、及び組織の総湿重量あたり ($\mu\text{l}/\text{total wet tissue/h}$) で表示した。

4. IBAT グリコーゲン含量、タンパク質含量の測定

IBAT グリコーゲン含量の測定は、Lo et al.の方法に従った²⁶⁾。IBAT タンパク質含量の測定は、Schacterle and Pollackの方法に従った³⁷⁾。比色測定には、分光光度計 (HITACHI 100—40型) を用いた。

5. 統計的処理

各群では、まずその平均値と標準誤差を算出した。次に、分散の検定には、Bartlett 法を、平均値の検定には一元配置分散分析法を用いた。各群間の平均値の差の検定には Duncan の多範囲検定

法を用いた。また、IBAT 10 mg タンパク質あたりの酸素消費量と副睪丸脂肪組織、腎周囲脂肪組織の相関を求め有意性の検定を行った。有意水準は、5 % ($p < 0.05$)とした¹⁹⁾。

Ⅲ 結 果

1. 体重、IBAT、肝臓、副睪丸脂肪組織および腎周囲脂肪組織の組織重量について

3 群の体重と IBAT、肝臓、副睪丸脂肪組織および腎周囲脂肪組織の総湿重量と体重 100 g あたりの湿重量の平均値と標準誤差を表 2 に示した。体重は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群が有意に低く、HF 群に比べ HFC 群が有意に低かった。IBAT 総湿重量は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群が有意に重く、HFC 群に比べ HF 群が有意に重かった。IBAT 体重 100 g あたりの湿重量は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群が有意に重く、HF 群と HFC 群では、差は認められなかった。肝臓の総湿重量と体重 100 g あたりの湿重量では、3 群間にいずれも差は認められなかった。副睪丸脂肪組織の総湿重量と体重 100 g あたりの湿重量では、NP 群に比べ HF 群が有意に重く、HFC 群に比べ HF 群が有意に重かった。腎周囲脂肪組織の総湿

重量は、NP 群に比べ HF 群が有意に重く、HFC 群に比べ HF 群が有意に重かった。体重 100 g あたりの腎周囲脂肪組織重量は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群が有意に重く、HFC 群に比べ HF 群が有意に重かった。

2. 血清グルコース濃度、FFA 濃度、TG 濃度、および総コレステロール濃度について

血清グルコース濃度、FFA 濃度、TG 濃度及び総コレステロール濃度の平均値と標準誤差を表 3 に示した。血清グルコース濃度は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群で有意に低値を示した。血清 FFA 濃度は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群で有意に高値を示した。

血清 TG 濃度、および総コレステロール濃度は、HF 群に比べ HFC 群が低値を示す傾向にあったが、3 群間にいずれも有意な差は認められなかった。

3. IBAT のグリコーゲン含量およびタンパク質含量について

IBAT のグリコーゲン含量は、単位湿重量当り NP 群で 23 ± 2 mg, HF 群で 25 ± 3 mg, HFC 群で

Table 2. Body weight, IBAT, liver, epididymal and perirenal adipose tissue weight of rats

	Dietary treatments		
	Nonpurified	High-fat	High-fat plus 0.014% Capsaicin
Body Weight (g)	285 ± 2	$252 \pm 1^*$	$239 \pm 2^{*+}$
Total tissue weight (mg)			
IBAT	138 ± 5	$232 \pm 15^*$	$190 \pm 9^{*+}$
Liver	7330 ± 132	7176 ± 101	7032 ± 89
Epididymal adipose tissue	1309 ± 76	$2045 \pm 181^*$	$1452 \pm 83^+$
Perirenal adipose tissue	466 ± 92	$2060 \pm 136^*$	$748 \pm 100^+$
Tissue weight/100 g Body Weight (mg/100 g B. W.)			
IBAT	53 ± 2	$91 \pm 6^*$	$79 \pm 4^*$
Liver	2845 ± 483	2839 ± 40	2932 ± 41
Epididymal adipose tissue	508 ± 29	$813 \pm 72^*$	$575 \pm 44^+$
Perirenal adipose tissue	181 ± 36	$818 \pm 53^*$	$312 \pm 42^{*+}$

Values are expressed as mean $\pm$ SEM (Nonpurified : 12 rats, High-fat : 10 rats, High-fat + Capsaicin : 10 rats)

* : Significant difference from the value of Nonpurified diet group (* : $p < 0.05$)

+ : Significant difference from the value of High-fat diet group (+ : $p < 0.05$)

Table 3. Serum concentrations of glucose FFA, TG and total cholesterol in rats

		Dietary treatments		
		Nonpurified	High-fat	High-fat plus 0.014% Capsaicin
Glucose	(mg/dl)	116±4	92±6*	92±3*
FFA	(μ Eq/l)	58±2	73±3*	81±5*
TG	(mg/dl)	34±3	41±5	33±2
Total cholesterol	(mg/dl)	54±4	63±5	55±4

Values are expressed as mean $\pm$ SEM (Nonpurified : 12 rats, High-fat : 10 rats, High-fat + Capsaicin : 10 rats)

* : Significant difference from the value of Nonpurified diet group (* ; $p < 0.05$)

24 $\pm$ 2 mg と 3 群間に差は認められなかった。IBAT のタンパク質含量は、単位湿重量当り NP 群で 225 $\pm$ 5 mg, HF 群で 207 $\pm$ 9 mg, HFC 群で 221 $\pm$ 10 mg と NP 群, HFC 群, HF 群の順に高値を示す傾向にあったが 3 群間に差は認められなかった。

4. IBAT 酸素消費量について

IBAT の総湿重量あたり、100 mg 湿重量あたりおよび 10 mg タンパク質あたりのそれぞれの酸素消費量について図 1 に示した。IBAT 酸素消費量は、NP 群に比べ、HF 群は、総湿重量あたり、100 mg 湿重量あたり、10 mg タンパク質あたりの

Fig 1. Oxygen consumptions of IBAT in rats

Values are expressed as mean $\pm$ SEM (Nonpurified : 12 rats, High-fat : 10 rats, High-fat + Capsaicin : 10 rats)

* : Significant difference from the value of Nonpurified diet group (* ; $p < 0.05$)

+ : Significant difference from the value of High-fat diet group (+ ; $p < 0.05$)

各表示でいずれも有意に低く、HFC 群は 100 mg 湿重量あたりで有意に低かった。また、HF 群に比べ HFC 群は、100 mg 湿重量あたり、10 mg タンパク質あたりの両表示で有意に高く、総湿重量あたりでも有意ではないが高い傾向にあった。

5. IBAT 酸素消費量と副睾丸脂肪組織、腎周囲脂肪組織の組織重量との相関について

IBAT 10 mg タンパク質あたりの酸素消費量と副睾丸脂肪組織 ($r = -0.43$), 腎周囲脂肪組織 ($r = -0.54$) の湿重量との間に有意な負の相関が認められた。

IV 考 察

ラットの体重について、Kawada et al. は、NP 食は高脂肪食 (Lard 食) に比べタンパクの栄養価が高いため、NP 群で HF 群、HFC 群に比べ体重増加量が多く実験食による飼育後の体重は高値を示すと報告している²²⁾。今回も同様の理由により NP 群と HF 群、HFC 群で実験食による飼育後の体重に有意な差が認められた。カプサイシン添加の影響では、Nopanitaya はラットを ad lib. にて飼育した場合に、体重増加量がコントロール食群に比べカプサイシン添加食群で低値を示すことを報告している²⁹⁾。また、Sanbaiah et al. は、ラットをコントロール食とカプサイシン添加食で 8 週間飼育した場合に、飼育後の体重でカプサイシン添加食群がコントロール食群に比べ低値を示したことを報告している³⁶⁾。今回もこれらの報告と同様、カプサイシン投与により HFC 群で体重増加が抑えられて、体重に有意な差が認められたと考えられる。次に、肝臓、副睾丸脂肪組織、腎周囲脂肪組織の組織重量についてみると、肝臓の組織重量で、Berke and Kaplan は、ab lib. 飼育のラットで高脂肪食群と高炭水化物食群との間に有意な差が認められなかったと報告し³⁾、Kawada et al. は、カプサイシンの添加による影響は認められなかったと報告している²²⁾。今回も先の報告と同様に肝臓重量に差が認められなかった。副睾丸脂肪組織重量について高脂肪食の影響をみると、Peckham et al. は、ad lib. で飼育

したラットでコントロール食群に比べ高脂肪食群が高値を示すと報告している³⁰⁾。Corbett et al. もラットで、高脂肪食を ad. lib. もしくは制限して摂取させたとき、どちらの場合も対照群と比較して体脂肪率及び生殖腺部、腹膜後と皮下の脂肪細胞数及び大きさが増加するとしている⁴⁾。今回も、これらの結果と一致し高脂肪食群で有意に高値を示し、高脂肪食で脂肪がより蓄積されたことがわかった。また、腎周囲脂肪組織は副睾丸脂肪組織と同じ白色脂肪組織であるため、副睾丸脂肪組織と同様に高脂肪食群が高値を示したと考えられる。カプサイシン添加の影響では、Kawada et al. は今回と同様の条件で飼育したラットでカプサイシン添加により脂質の代謝がさかんになり、HFC 群が HF 群に比べ腎周囲脂肪組織で有意に低値を示すと報告している²²⁾。今回、腎周囲脂肪組織は Kawada et al. の報告と一致し、さらに、副睾丸脂肪組織でも有意な差が認められた。これは脂肪組織全般で脂質の代謝が盛んになったことを示している。IBAT 組織重量については、酸素消費量との関係で後に考察する。次に、血清成分をみると、高脂肪食の影響については、Smith and Björntorp は、ラットを高脂肪食で ad lib. にて飼育した場合、高脂肪食群で高炭水化物食群に比べ、血清 FFA、コレステロールが高値を示し、TG は低値を示すと報告している⁴¹⁾。血清 FFA とグルコースについては、Zargoza and Felber は、高脂肪食群でコントロール食群に比べ、血清 FFA、グルコースともに高値を示すことを報告している⁴⁸⁾。一方、血清成分は食事制限や絶食の影響を受けることが知られており、今回のように、最後の摂食から IBAT 摘出までの時間の影響をなくする意味で 1 夜絶食させた場合その影響もでてくると考えられる。Koletsy and Puterman によると、食餌制限は血清 TG とコレステロールの急激な低下を引き起こすとしており²⁴⁾、Hutchens et al. は絶食により肝臓のコレステロール合成能が低下すると報告している¹⁷⁾。また、Steffen et al. は ad lib. 飼育のラットで 24 時間の絶食により、絶食群が摂食群に比べ FFA は高値を示し、グルコースは低値を示すと報告している⁴³⁾。

今回、血清 TG、コレステロールで高脂肪食の影響がみられず、血清 FFA が NP 群に比べ HF 群と HFC 群で高値を示し、血清グルコースが NP 群に比べ HF 群と HFC 群で低値を示した。HF 群や HFC 群では、代謝が脂質代謝に傾いているということを示している。これは、高脂肪食による影響と、高脂肪食と NP 食に消化、吸収の違いがあり、絶食の影響が異なっていたのではないかと考えられるが明らかではない。カプサイシン添加の影響では、Kawada et al. は、HFC 群 HF 群に比べ血清 TG で有意に低値を示し、その他の項目では有意な差が認められなかったと報告している²²⁾。今回、血清 TG 以外の項目では先の報告と一致したものの、血清 TG は低値を示す傾向にあったが有意な差は認められずカプサイシンの影響が明白ではなかった。

以上、体重、組織重量、血清成分をみるとラットに対し高脂肪食による影響がみられ、またカプサイシン添加による影響も明らかにみられる。そこで IBAT に対する影響をみてみた。まず、IBAT の組織重量をみると、Rothwell et al. は、BAT の重量は低脂肪食、高脂肪食それぞれで飼育したラットでは、総組織重量及び体重 100 g あたりの重量ともに高脂肪食群が高値を示すと報告している³⁵⁾。また、Agius et al. も、脂肪含量が高い高エネルギー食で BAT 重量が重くなるとしている¹⁾。Himms-Hagen et al. も同様の報告をしており、肥満動物の BAT の脂質含量が高いことと、体に脂質が蓄積している状態では、BAT にも脂質が蓄積し WAT と区別しにくくなることを報告している¹⁵⁾。今回もこれらと同様に HF 群で IBAT 重量が最も重かった。また、IBAT の組成をみるとグリコーゲン含量は差が認められないものの、蛋白質含量で HF 群が最も低値を示している。Glick et al. は 1 回の食事後の BAT 肥大は、主として脂質含量の増加によるとしている¹⁰⁾。しかし、本実験では IBAT の脂質含量を測定していないのでこの点については明らかではない。

次に IBAT 酸素消費量について、本研究では IBAT 熱産生の指標として内因性の酸素消費量を

用いている。従来 BAT 熱産生の指標としては、in vivo での酸素消費量¹²⁾や GDP 結合能⁶⁾が用いられてきている。内因性酸素消費量とこれらの関係をみると、Triandafillou and Himms-Hagen が、肥満し熱産生能力が低下しているラットでは IBAT の GDP 結合能が低いと報告しており⁴⁴⁾、Levin et al. は肥満したラットでは IBAT の内因性酸素消費量が低下していることを報告している²⁵⁾。つまり内因性酸素消費量は GDP 結合能と同じ傾向を示し、熱産生の指標となりえることがわかる。このことは Glick et al. も 1 回の食事の影響についての研究で同じ主張を行っている⁸⁾。内因性の酸素消費量を指標として高脂肪食の影響をみると、Mercer and Trayhurn は、寒冷順化したマウスで高脂肪食は交感神経系を刺激し熱産生を高めると報告している²⁷⁾。また Schwartz et al. もラットで、食事由来の脂肪は交感神経を刺激しノルアドレナリンの代謝回転を速め、食事誘発性体熱産生を活発にすると報告している³⁸⁾。一方、Glick はラットで BAT の内因性の酸素消費量は低脂肪食群に比べ高脂肪食群で低値を示したと報告し⁹⁾、BAT に対する血流量も高脂肪食より高炭水化物食の方が多いとしている¹¹⁾。Rothwell et al. も、ラットで BAT の温度は高炭水化物食群に比べ高脂肪食群で低値を示したと報告している³³⁾。人でも Schwartz et al. が、高脂肪食の方が Thermic effect は低いと報告している³⁹⁾。今回の実験では、HF 群の酸素消費量が NP 群に比べ有意に低値を示した。このことは、高脂肪食は BAT の熱産生を高めるのではなく熱産生を抑制するということが明らかとなった。本研究では in vitro の系にて酸素消費量を測定しており、この方法では取り出した BAT を含むインキュベーションメディウムに組織呼吸を調節したり、促進させたりするエネルギー基質、ホルモンまたは神経伝達物質等の物質を添加していない。よって組織の酸素消費量の差は組織のもつ貯蔵エネルギー量またはホルモン作用に起因する⁸⁾。生体内ではエネルギー基質やホルモン作用は交感神経系に強く依存しており、交感神経は食事組成の影響を受けることが報告されている²⁷⁾。このことから in

vitro の系において酸素消費量に差がみられたことは飼育過程の食事組成の違いが交感神経の興奮水準を変えBAT中のエネルギー基質、ホルモン等に影響したためと考えられる。IBAT の湿重量と酸素消費量の関係では、Rothwell and Stock は熱産生の高まっている IBAT では、組織重量の増加が観察されると報告している³¹⁾。しかし、先に示したように高脂肪食の場合組織重量は増加するが酸素消費量は逆に抑制され、組織重量と熱産生は比例しないことが明らかとなった。次に、カプサイシン添加の影響をみると、HFC 群では、HF 群に比べ、100 mg 湿重量あたり、10 mg タンパク質あたりの両表示で有意に高値を示したことから、IBAT では、カプサイシンが、高脂肪食の影響による単位タンパク質量あたりでみる呼吸活性の低下を防いでいることを示している。Watanabe et al. はカプサイシンの1回の投与により交感神経—副腎髄質からのカテコラミンの分泌が引き起こされ、カテコラミン刺激によるエネルギーの代謝亢進が起こると報告している⁴⁶⁾。このことから本実験のように一定期間の摂食においても吸収されたカプサイシンは、カテコラミンの分泌を引き起こし、IBAT 内のミトコンドリアに存在する熱産生に関係したタンパク質の活性を亢進させ、酸素消費量の減少を防ぎ、熱産生の低下を防止していると推測される。今回の実験で、カプサイシンの添加は、高脂肪食による白色脂肪組織重量の増加と、高脂肪食による IBAT の内因性酸素消費量の減少を防止していることが明らかとなった。

高脂肪食下のカプサイシンの添加は、IBAT を含む BAT の代謝を亢進し、熱産生を活発に行い、体内の余剰エネルギーを消費し、体脂肪の過剰蓄積を防ぐことで、肥満防止に寄与する可能性のあることが示された。

V 要 約

本研究は、カプサイシンが高脂肪食ラットの BAT 熱産生に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。実験には、生後8週令のJ. c. I-SD 系雄ラットを用いた。ラットを Nonpurified 食群

(NP 群)12匹、高脂肪食群(HF 群)10匹、高脂肪+0.014%カプサイシン食群(HFC 群)10匹の3群に分け10日間実験食にて飼育した。その後、ラットを1夜絶食させ、実験当日10時に断頭屠殺した。IBAT の重量、グリコーゲン含量、タンパク質含量および内因性の酸素消費量、肝臓、副睾丸脂肪組織および腎周囲脂肪組織重量及び血清基質濃度の測定を行った主な結果は以下の通りである。

- 1) 体重は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群が有意に低く、HF 群に比べ HFC 群が有意に低かった。
- 2) IBAT 総湿重量は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群が有意に重く、HFC 群に比べ HF 群が有意に重かった。IBAT 体重 100 g あたりの湿重量は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群が有意に重く、HF 群と HFC 群では、差は認められなかった。肝臓の総湿重量と体重 100 g あたりの湿重量では、3 群間にいずれも差は認められなかった。副睾丸脂肪組織の総湿重量と体重 100 g あたりの湿重量では、NP 群に比べ HF 群が有意に重く、HFC 群に比べ HF 群が有意に重かった。腎周囲脂肪組織の総湿重量は、NP 群に比べ HF 群が有意に重く、HFC 群に比べ HF 群が有意に重かった。体重 100 g あたりの腎周囲脂肪組織重量は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群が有意に重く、HFC 群に比べ HF 群が有意に重かった。
- 3) 血清グルコース濃度は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群で有意に低値を示した。血清 FFA 濃度は、NP 群に比べ HF 群、HFC 群で有意に高値を示した。血清 TG 濃度、および総コレステロール濃度は、3 群間にいずれも差は認められなかった。
- 4) IBAT 酸素消費量は、NP 群に比べ、HF 群は、総湿重量あたり、100 mg 湿重量あたり、10 mg タンパク質あたりの各表示でいずれも有意に低く、HFC 群は 100 mg 湿重量あたりで有意に低かった。また、HF 群に比べ HFC 群は、100 mg 湿重量あたり、10 mg タンパク質あたりの両表示で有意に高く、総湿重量あたりでも有意ではないが高い傾向にあった。
- 5) IBAT 10 mg タンパク質あたりの酸素消費量

と睾丸脂肪組織、腎周囲脂肪組織の湿重量との間に負の相関が認められた。

以上の結果より、カプサイシンの投与は、高脂肪食による白色脂肪組織重量の増加と高脂肪食による IBAT の内因生酸素消費量の減少を防いでいることが明らかとなった。

(謝辞：本研究にあたって、御懇切なる助言と御指導を頂きました静岡大学教育学部の渡辺功教授、山本章教授、國崎弘 前教授、前静岡大学保険管理センター所長の榎本浩昌教授に深く感謝致します。)

文献 (References)

- 1) Agius L., Bolis, B. J., Rowe, E. A., and Williamson, D. H. (1983) High-energy diet produced different effects on fatty acid synthesis in brown adipose tissue, white adipose tissue and liver in the rat. *Biochem. Biophys. Acta.* 750 : 383-387.
- 2) Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., Richmond, W., and Fu, P. C. (1974) Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 20 : 470-475.
- 3) Berke, B. M. and Kaplan, M. L. (1983) Effects of high carbohydrate diets on development of hepatic and adipose lipogenesis in fa/fa and non-fa/fa rats. *J. Nutr.* 113 : 820-834.
- 4) Corbett, S. W., Stern, J. S., and Keesey, R. E. (1986) Energy expenditure in rats with diet-induced obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 44 : 173-180.
- 5) Cottle, M. K. W. and Cottle, W. H. (1970) Adrenergic fibers in brown fat of cold-acclimated rats. *J. Histochem. Cytochem.* 18 : 116-119.
- 6) Desautels, M., Zaror-Behrens, G., and Himms-Hagen (1978) Increased purine nucleotide binding, altered polypeptide composition and thermogenesis in brown adipose tissue mitochondria of cold-acclimated rats. *Can. J. Biochem.* 56 : 378-383.
- 7) Feldman, D. (1978) Evidence that brown adipose tissue is a glucocorticoid target organ. *Endocrinology* 103 : 2091-2097.
- 8) Glick, Z., Teague, R. J., and Bray, G. A. (1981) Brown adipose tissue: Thermic response increased by a single low protein, high carbohydrate meal. *Science* 213 : 1125-1127.
- 9) Glick, Z. (1982) Inverse relationship between brown fat thermogenesis and meal size: The thermodynamic control of food intake revisited. *Physiol. Behav.* 29 : 1137-1140.
- 10) Glick, Z., Teague, R. J., Bray, G. A., and Lee, M. (1983) Compositional and Metabolic changes in brown adipose tissue following a single test meal. *Metabolism* 32 : 1146-1150.
- 11) Glick, Z., Wickler, S. J., Stern, J. S., and Horwitz, B. A. (1984) Blood flow into brown fats of rats is greater after a high carbohydrate than after a high fat test meal. *J. Nutr.* 114 : 1934-1939.
- 12) Heim, T. and Hull, D. (1966) The blood flow and oxygen consumption of brown adipose tissue in the newborn rabbit. *J. Physiol.* 186 : 42-55.
- 13) Hengartner, H. and Zuber, H. (1973) Isolation and characterization of a thermophilic glucokinase from *Bacillus stearothermophilus*. *FEBS LETTERS* 37 : 212-216.
- 14) Himms-Hagen, J. (1979) Obesity may be due to a malfunctioning of brown fat. *CMA J.* 121 : 1361-1364.
- 15) Himms-Hagen, J. (1983) Brown adipose tissue thermogenesis in obese animal. *Nutr. Rev.* 41 : 261-267.
- 16) Hull, D. and Segall, M. M. (1965) Sympathetic nervous control brown adipose tissue and heat production in the new-born rabbit. *J. Physiol.* 181 : 458-467.
- 17) Hutchens, T. T., Van Bruggen, J. T., Cockburn, R. M., and West, E. S. (1954) The effect of fasting upon tissue lipogenesis in the intact rat. *J. Biol. Chem.* 208 : 115-122.
- 18) Interdepartment Committee on Nutrition for National Defense (1962) Nutrition survey-the kingdom of Thailand. US Government Printing Office : Washington, DC. pp. 57-59.
- 19) 石居 進 (1988) 生物統計学入門 (初版). 培風館 : 東京.
- 20) 岩井和夫・中谷延二 (1989) 香辛料成分の食品機能 (初版) : 香辛料辛味成分の体熱産生亢進作用とその発現機構. 光生館 : 東京, pp. 97-127.
- 21) Joel, C. D. (1965) Handbook of physiology. Section 5 Adipose tissue (1st Ed.: The physiological role of brown adipose tissue. The Williams & Wilkins Company : Baltimore, pp. 59-85.
- 22) Kawada, T., Hagihara, K., and Iwai, K. (1986) Effects of capsaicin on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. *J. Nutr.* 116 : 1272-1278.

- 23) Kawada, T., Watanabe, T., Takaishi, T., Tanaka, T., and Iwai, K. (1986) Capsaicin-induced β -adrenergic action on energy metabolism in rats: Influence of capsaicin on oxygen consumption, the respiratory quotient and substrate utilization. *J. Nutr.* 116 : 1272-1278.
- 24) Koletsky, S. and Puteerman, D. I. (1977) Reduction in atherosclerotic disease in genetically obese rats by low caloric diet. *Exp. Mol. Pathol.* 26 : 415-424.
- 25) Levin, R. E., Finnegan, M. B., Marquet, E., and Sullivan, A. C. (1984) Defective brown adipose oxygen consumption in obese Zucker rats. *Am. J. Physiol.* 247 (Endocrinol. Metab. 10) : E94-E100.
- 26) Lo, S., Russell, J. C., Tayler, A. W. (1970) Determination of glycogen in small tissue sample. *J. Appl. Physiol.* 28 : 234-236.
- 27) Mercer, S. W. and Trayhurn, P. (1984) Effect of high fat diets on the thermogenic activity of brown adipose tissue in cold-acclimated mice. *J. Nutr.* 114 : 1151-1158.
- 28) Moore, B. J., Inokuchi, T. S., and Horwitz, B. A. (1985) Brown adipose tissue lipectomy leads to increased fat deposition in Osborne-Mendel rats. *Am. J. Physiol.* 248 : R231-R235.
- 29) Nopanitaya, W. (1973) Long effect of capsaicin on fat absorption and the growth of the rat. *Growth* 37 : 269-279.
- 30) Peckham, S. C. Entenman, C., and Carrol, H. W. (1962) The influence of a hypercaloric diet on gross body and adipose tissue composition in the rat. *J. Nutr.* 77 : 187-197.
- 31) Rothwell, N. J. and Stock, M. J. (1979) A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. *Nature* 281-6(9) : 31-35.
- 32) Rothwell, N. J., Saville, M. E., Stock, M. J., and Wylie, M. G. (1982) Catecholamine and thyroid hormone influence on brown fat Na^+ , K^+ -ATPase activity and thermogenesis in the rat. *Horm. Metabol. Res.* 14 : 261-265.
- 33) Rothwell, N. J. and Stock, M. J. (1983) Acute effects of fat and carbohydrate on metabolic rate in normal, cold-acclimated and lean and obese (fa/fa) Zucker rats. *Metabolism* 32 : 371-376.
- 34) Rothwell, N. J. and Stock, M. J. (1983) Mammalian Thermogenesis, 1st, diet-induced thermogenesis. Chapman & Hall: London, pp. 208-233.
- 35) Rothwell, N. J., Stock, M. J., and Warwick, B. P. (1985) Energy balance and brown fat activity in rats fed cafeteria diets or high-fat, semisynthetic diets at several levels of intake. *Metabolism* 34 : 474-480.
- 36) Sambaiah, K., Satyanarayana, M. N., and Rao, M. V. L. (1978) Effect of red pepper (chillies) and capsaicin on fat absorption and liver fat in rats. *Nutrition Reports International* 18 : 521-529.
- 37) Schacterle, G. R. and Pollack, R. L. (1973) A simplified method for the quantitative assay of small amounts of protein in biologic material. *Anal. Biochem.* 51 : 654-655.
- 38) Schwartz, J. H., Young, J. B., Landsberg, L., and Dana, C. A. (1983) Effect of dietary fat on sympathetic nervous system activity in the rat. *J. Clin. Invest.* 72 : 361-370.
- 39) Schwartz, R. S., Ravussin, E., Massari, M., O'Connell, M., and Robbins, D. C. (1985) The thermic effect of carbohydrate versus fat feeding in man. *Metabolism* 34 : 285-293.
- 40) 清水 昌・安井浩司・谷 吉樹・山田秀明・田畑勝好・村地 孝 (1980) 微生物のアシル-CoA 合成酵素 (3). 日本農芸化学会講演要旨集 55, p. 38.
- 41) Smith, U., Kral, J., and Björntorp, P. (1974) Influence of dietary fat and carbohydrate on the metabolism of adipocytes of different size in the rat. *Biochimica et Biophysica Acta* 337 : 278-285.
- 42) Spayd, R. W., Bruschi, B., Burdick, B. A., Dappen, G. M., Eikenberry, J. N., Esder, T. W., Figueras, J., Goodhue, C. T., LaRossa, D. D., Nelson, R. W., Rand, R. N., and Wu, T. W. (1978) Multilayer film elements for clinical analysis: Applications to representative chemical determination. *Clin. Chem.* 24 : 1343-1350.
- 43) Steffens, A. B., Mogenson, G. J., and Stevenson, J. A. F. (1972) Blood glucose, insulin, and free fatty acids after stimulation and lesion of the hypothalamus. *Am. J. Physiol.* 222 : 1446-1452.
- 44) Triandafilou, J. and Himms-Hagen, J. (1983) Brown adipose tissue in genetically obese (fa/fa) rats: Response to cold and diet. *Am. J. Physiol.* 224 (Endocrinol. Metab. 7) : E145-E150.
- 45) Watanabe, T., Kawada, T., and Iwai, K. (1987) Enhancement by capsaicin of energy metabolism in rats through secretion of catecholamine from adrenal

- medulla. Agric. Biol. Chem. 51 : 75-79.
- 46) Watanabe, T., Kawada, T., Yamamoto, M. and Iwai, K. (1987) Capsaicin, a pungent principle of hot red pepper, evokes catecholamine secretion from the adrenal medulla of anesthetized rats. Biochem. Biophys. Res. Commun. 142 : 259-264.
- 47) Watanabe, T., Kawada, T., Kurosawa, M., Sato, A. and Iwai, K. (1988) Adrenal sympathetic efferent nerve and catecholamine secretion excitation caused by capsaicin in rats. Am. J. Physiol. 255 (Endocrinol. Metab. 18) : E23-E27.
- 48) Zargoza, N. and Felber, J. P. (1970) Studies on the metabolic effect induced in the rat by a high fat diet. Horm. Metab. Res. 2 : 323-329.
- (平成 4 年 4 月 24 日 受付)
-