

平成22年 5月 1日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19500360
 研究課題名(和文) 低温不耐性モデル動物としてのスンクスと産熱器官としての褐色脂肪組織の不全
 研究課題名(英文) The house shrew, *Suncus murinus*: Animal model for cold intolerance characteristics and imperfection of brown adipose tissue
 研究代表者
 織田 統一 (ODA Sen-ichi)
 名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授
 研究者番号：60023660

研究成果の概要：

スンクスの生息分布域は熱帯・亜熱帯で、飼育下での経験で、低温状態では繁殖の停止、さらには死亡することもある。その原因を探ったところ、産熱タンパク遺伝子 Ucp-1 の変異による産熱性の不足、日内休眠による低体温、その低体温からリカバーできるだけのカロリー不足が原因と考えられた。その場合に顕著な褐色脂肪組織の萎縮が観察され、産熱タンパク質の uncoupling protein-1, Ucp-1 および甲状腺ホルモンの II 型脱ヨード酵素 (type-2 deiodinase, D2) の発現量の減少がみられた。高カロリー食としての高脂肪食、蔗糖水の投与によって褐色脂肪の肥大化が観察され、耐寒性が増大した。産熱器官としての褐色脂肪組織の萎縮が回避できれば、低温に対する抵抗性が増加するものと考えられる。しかしながら高タンパク食で腹腔内脂肪がほとんど蓄積せず、蔗糖水で容易に高血糖を示すスンクスは長期に高脂肪高蔗糖の飼料で正常な飼育ができるかどうか疑問である。このようにスンクスは産熱器官としての褐色脂肪組織の機能を研究する上で、ユニークなモデル動物であることが明らかになった。哺乳類の体温恒常性維持における体外エネルギーの保証という概念が提唱できそうである。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：実験動物学・実験動物学

キーワード：スンクス、低温不耐性、褐色脂肪組織、日内休眠、Ucp-1

1. 研究開始当初の背景

スンクスはジャコウネズミの実験動物名で、食虫目トガリネズミ科ジネズミ亜科ジャコウネズミ属分類され、基産地はインドで、南アジア、東南アジアなど熱帯・亜熱帯に生

息している。日本では徳之島、沖縄など南西諸島に分布し、北限が長崎（現在はほぼ絶滅状態）で、以北には生息していない。

いままでの経験で (1) 野生のスンクスは熱帯・亜熱帯など温暖地域に生息が限定されること、(2) 飼育下にあっても飼育室が低温

の場合に低体温と不動化そして死亡する場合があること、(3) 低温環境でも生き延びる場合があること、(4) 低体温でも暖めれば回復する場合があること、などを観察してきた。体温維持に uncoupling protein-1 (UCP-1) が関与していること、また褐色脂肪が重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

2. 研究の目的

スunksが熱帯・亜熱帯に生息域が限定される原因が何か、について実態はつかめてこなかった。その可能性として体温維持機能の低下を仮定し、甲状腺ホルモン、熱産生に関与する uncoupling protein-1 (UCP-1) についてバングラデシュ由来の KAT ラインで検討した。その結果から uncoupling protein-1 (UCP-1) が、他の哺乳類とは異なり、機能部位にアミノ酸置換があり、産熱性が劣る可能性が考えられた。低温下で生存できる個体がいることもあり、それだけでは低温不耐性を説明できなかった。そこで低温環境下においても生存できるには、どのような条件が必要なのか、という発想のもとで、体温の維持に重要な役割を持つ「褐色脂肪組織」に着目して研究をすすめることにした。

予備実験ではスunksでは褐色脂肪の役割が格段と大きいことを示唆していた。これが解明されれば低温域で生活できない理由がわかるとともにユニークな生理的モデル動物となるであろう。スunksにおける低温不耐性（低温下で飼育すると死亡に至る）と褐色脂肪の役割について、以下の観察項目を設定した。

- (1) スunksを寒冷暴露下で飼育した場合の褐色脂肪組織の変動
 - (2) 蔗糖水の投与など栄養条件による褐色脂肪組織の変動
 - (3) 褐色脂肪組織の消長と低温不耐性への影響
- を観察し、スunksにおける褐色脂肪組織の役割について考察した。

3. 研究の方法

(1) スunks実験群と対照種のマウス
研究材料としてのスunksの繁殖を行い、育成・維持・生産し実験群を作成した。この研究では繁殖力の強い、ネパール・カトマンズ産由来の KAT ラインのみを用い、1群を5匹とした。スunksの対照動物種としてマウス（近交系 C57BL）を用いた。スunksおよびマウスは自家繁殖群である。

(2) 寒冷暴露実験
寒冷暴露装置は既存のメデイカルクーラー

（冷蔵庫）を改良して、寒冷暴露用の飼育ケージをセットした。温度は4℃から15℃が設定できるようにした。通常の飼育室は25℃である。

(3) 褐色脂肪組織で発現する産熱タンパク質 uncoupling protein-1 (UCP-1) および甲状腺ホルモンの II 型脱ヨード酵素 (type-2 deiodinase, D2) の発現量を測定した。また褐色脂肪組織の「組織切片を作成し、その状態を観察する。

(4) スunksに高カロリー食である高脂肪食および蔗糖水を飲ませて、低温暴露でのスunksの状態、および褐色脂肪の状態を(3)の方法で観察した。

4. 研究成果と考察

マウスやハムスターなどは寒冷暴露を行うと、褐色脂肪組織において適応的な熱産生が起きる。この熱産生には uncoupling protein-1 (UCP-1) が関与しており、この UCP-1 は高脂肪食によって増加すること、甲状腺ホルモンによっても増加すること、が知られている。

スunksは低温環境条件では繁殖の停止、4℃というレベルでは、不動化し、その後死亡することが確認できた。

(1) 熱産生にかかわる UCP-1 の遺伝子発現は褐色脂肪組織でマウスと同様に特異的に発現していた。KAT ラインだけでなく長崎産由来のラインである NAG の Ucp-1 をクローニングしたところ、その機能部位にアミノ酸の置換があり、変異型を示していた。KAT のみならずオリジンの異なる NAG ラインでも変異があることからスunksという種としての特性として変異があることが考えられた。マウスでもこの部位に変異があると低体温になるという報告がある。このことからこの UCP-1 が体温維持に十分な機能を果たさず、スunksの低温不耐性の原因になっている可能性が考えられた。

(2) ところが、6℃では生存できるものと死亡するものがあり、死亡するものでは褐色脂肪組織が萎縮していた。予備実験では高脂肪食で褐色脂肪組織が肥大化することを観察しているため、肥大化を指標にして高脂肪食による低温耐性の改善がはかれるかどうか、高カロリー食では褐色脂肪の肥大化が起きるのか、に関して以下のような実験を行なった。

(3) スunksの寒冷暴露時間は短期としては1, 2, 4, 8, 12, 24, 48時間、および長期としては50日間の連続的な観察を行なった。短期では通常死亡しない程度の6-8℃の寒冷暴露を行なった。その後、長期の寒冷環境下における適応能力を観察した。その結果、

低温暴露を行って高脂肪食（フェレット飼育用餌）で飼育した場合は、明らかに不動化はみられず、長期暴露においても死亡個体は顕著に減少した。その時の褐色脂肪組織の状態について組織切片を作成して観察したところ、萎縮はみられず、脂肪滴が多く観察された。さらに褐色脂肪組織の UCP-1 および D2 の発現量を測定したところ上昇傾向が認められた。一方、対照群として通常温度環境下で通常の餌で飼育した個体、低温暴露下で通常の餌を給与していた個体では褐色脂肪組織の UCP-1 および D2 の発現量は増加しなかった。通常温度環境で脂肪過多の餌で飼育した場合は褐色脂肪組織の肥大はみられるが褐色脂肪組織の UCP-1 および D2 の発現量は増加しなかった。このことから高脂肪食で褐色脂肪組織が肥大した状態では UCP-1 および D2 の発現量が増加し、耐寒性が増したものと考えられた。

・摂食・摂水量は特に減少することはなかったが、寒冷暴露を行った個体のほとんどにおいて体重が減少した。

・通常食では、寒冷暴露により D2 ならびに Ucp1 mRNA の発現は増加しなかったが、高脂肪食飼育下で寒冷暴露を行うと、D2 と Ucp1 の mRNA 発現は有意に増加した。

・低温室に移動して数日間は活動量の低下が観察されたが、5日目頃では常温飼育と同様の活動がみられた。

・また、D2 と Ucp1 mRNA 発現量との間に正の相関が認められたことから、D2 を介した Ucp1 の発現の調節機構が存在していることが示唆された。

しかしながらスunksの食餌内容によっては、その熱産生機構が十分に機能していないことが示された。

(4) 高カロリー食で褐色脂肪組織を肥大化させれば低温耐性が増す可能性が考えられた。そこで蔗糖水を投与した場合について検討した。その結果、蔗糖水投与によって明らかに褐色脂肪組織の肥大が観察され、耐寒性が増すものと考えられた。ところが蔗糖水投与によって褐色脂肪が肥大するものの、0.3 モル程度の蔗糖水投与を継続すると、血糖値が400を越える高い値となり、その結果、白内障の発症が観察された。0.1 モル程度の蔗糖水がいままでの実験ではもっとも適した濃度であると考えられるが、さらに検討を必要としている。

・0.3Mの蔗糖水の投与によって、IBATの著しい肥大化が認められた。従って、蔗糖水の投与はスunksの耐寒性を改善できる可能性を示唆した。

・しかし同時に、成長率の低下、多飲、多尿、高血糖、白内障、肝臓における組織学的な異常を呈した。

・多尿によって床敷が濡れると、体温の低下

を招くため、0.3Mの蔗糖水の投与は、耐寒性を検討する上では不适当であることが示唆された。従って今後、BATの肥大化を誘導するものの、糖尿病様状態を誘導しない蔗糖水の濃度を検討する必要があると考えられた。

(5) 高タンパク食で腹腔内脂肪がほとんど蓄積せず、蔗糖水で容易に高血糖を示すスunksは長期に高脂肪高蔗糖の飼料で正常な飼育ができるかどうか疑問である。このようにスunksは産熱器官としての褐色脂肪組織の機能を研究する上で、ユニークなモデル動物であることが明らかになった。

(6) スunksは日内休眠を行なう動物で、このことが低温不耐性をもたらすもう一つの要因であることを明らかにした。1日1回20℃程度に体温が低下するが、この時、低温暴露状態では褐色脂肪組織による産熱でリカバーするが、褐色脂肪組織が肥大しておらず萎縮しておれば、Ucp-1やD2の発現は低く、体温のリカバーができず、不動化し死亡する。なぜ多くが脱落（死亡）しいくらかは生き残るのか、という疑問の回答になるものと思われる。

(7) 褐色脂肪組織には交感神経が投影しており、その活性化には交感神経の関与も大きいことが知られている。交感神経切断を行なう等、今後のデータが追加される必要がある。

(8) これら一連の研究によって、哺乳類の体温恒常性維持における体外エネルギーの保証、という概念が提唱できるように思われる。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計2件）

①SUZUKI Daisuke, MURATA Yoshiharu and ODA Sen-ichi: Changes in *Ucp1*, *D2(Dio2)*, and *Glut4(Slc2a4)* mRNA expression in response to short-term cold exposure in the cold-intolerant house musk shrew (*Suncus murinus*). *Experimental Animals*, 56(4), 279-288, 2007 (査読あり)

②鈴木大輔, 織田銑一: スunksの生理的特性 とくに低温不耐性と褐色脂肪組織. 特集: スunksー実験動物としての食虫目トガリネズミ科動物-, アニテックス, 19(4), 12-17, 2007 (査読なし)

[学会発表] (計1件)

①ODA Sen-ichi, SUZUKI Daisuke: The cold intolerance characteristics and brown adipose tissue in the house shrew, *Suncus murinus*. The 10th International Congress of Mammalogy, Mendoza, Argentina, メンドーサ、アルゼンチン 2009. 8. 9-14

6. 研究組織

(1) 研究代表者

織田 統一 (ODA Sen-ichi)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授
研究者番号：60023660