

第三章 カプサイシンの体熱産生作用

1. 先行研究と本実験の目的

肥満とは脂肪重量の増加した状態であり、遺伝的要因と環境的要因の相互作用によって発症すると考えられており、高血圧症などの生活習慣病の発症に密接に関連している。肥満の一つの原因に、褐色脂肪組織 (Brown Adipose Tissue : BAT) の機能低下による熱産生不全が古くから示唆されている (Smith, 1969)。BAT は、体重の約 1 % 程度の小組織であるが、染色するとミトコンドリアが多く含まれて代謝活性が非常に高いことが示される (Fig 1)。ヒトや哺乳動物の脂肪組織には BAT と白色脂肪組織 (White Adipose Tissue : WAT) が存在し、エネルギー源としての脂肪蓄積を担当する WAT に対し、BAT は体熱産生を活発に行う機能を保持する (Joel, et al. 1965)。ラットで BAT を除去した場合は、体脂肪の過剰蓄積が引き起こり (Moore et al. 1985)、BAT の機能不全では肥満の悪化が報告されている (Himms-Hagen J et al., 1978)。

一方、唐辛子の主成分であるカプサイシンは、炭素鎖長 8~10 の脂肪酸の N - バニリルアミドの混合物で、消化機能を盛んにする作用がある (太田ら、1987)。また、カプサイシンは脂肪の体内燃焼を促し、全身の酸素消費を上昇させ (Kawada, 1986)、また、中枢神経を介して副腎髄質ホルモンのアドレナリンを放出させ、エネルギー代謝を亢進させることが報告されている (渡辺ら、1977)。

遺伝的に高血圧を発症する高血圧自然発症ラット (SHR) はウイスター (WKY) ラットと比べ内臓に脂肪沈着が増大しており、脂質代謝の障害が想定される (Harris, 1994)。本研究ではカプサイシンの脂質代謝に及ぼす作用を多角的に解明する目的で、ラットの BAT の酸素消費量および脂肪組織の重量、血液成分等に対する影響についての検討を試みた。

2. 方法

実験動物、飼育方法及び血圧測定

生後 8 週齢の雄ウイスター (WKY) ラットと高血圧自然発症雄ラット (SHR) (体重 147-153g) 24 匹を用い、ステンレス製ワイヤーケージにて個別飼育した。飼育室内は、 22.0 ± 2.0 °C、湿度 $50.0 \pm 5.0\%$ 、12 時間の明暗サイクルに維持した。ラットは、Nonpurified 食 (MF、オリエンタル酵母工業社、東京) にて 2 週間の予備飼育した後、1 群 6 匹とし、1) WKY 対照群 (WKY-Cont)、2) カプサイシン投与 WKY 群 (WKY+カプサイシン)、3) SHR 対照群 (SHR-Cont)、4) カプサイシン投与 SHR 群 (SHR+カプサイシン) の 4 群に分けた。実験食は、Kawada ら (1986) の報告に準拠し、高脂肪食 (30%lard) を毎日 1 匹当たり定量の 10.5g を投与して 10 日間飼育した。カプサイシン添加量は 0.014% とし、同量の飼料成分中の澱粉と置き換えた (Table 1)。これはタイ人の通常の食事に含まれているカプサイシンと同濃度である (Nutrition research in Indonesia and Thailand, 1967)。血圧測定はラットを 45 °C にて 5 分間予備加温した後、ホルダーに固定し、Tail-pulse pick up 法 (USM-105-R 型、植田製作所) にて無麻酔下非観血的に行った。

解剖及び血清成分測定

ラットの BAT は腎臓周りや肩甲骨間など体内の緒部位に存在するが、本実験では区分が明確でかつ多量に存在している肩甲骨間の褐色脂肪組織 (Interscapular BAT : IBAT) を用いた。飼育終了後、一夜絶食させたラットを

麻酔下にて開腹し、腹部大動脈より全血採血後、直ちに室温にて IBAT を摘出し、酸素消費量の測定に用いた。また、氷上にて肝臓、副睾丸および腎周囲脂肪組織を摘出し、組織重量を計測した。血液は、4°C で 1 時間放置後、3000rpm、20 分間遠心分離し、測定時まで - 40°C にて凍結保存した。血清グルコース濃度測定は、Hengartner H. et al. (1973) の方法、血清遊離脂肪酸濃度 (free fatty acid: FFA) 測定は、清水ら (1980) の方法を用いた。また、血清中性脂肪 (Triglyceride : TG) 濃度は、Spayd et al. (1978)、血清総コレステロール (T-chol) 濃度は Allain et al. (1974) の方法に従って測定した。

IBAT 酸素消費量の測定

IBAT 酸素消費量は、in vitro で一検体について 2 回測定を行った。IBAT を Krebs Ringer buffer 溶液 (PH7.4) 4ml 中に入れ、細かくチョップした後、O₂ UPTAKE MANOMETER (6 C, TAITEC, 東京) にて酸素消費量を測定した。炭酸ガス吸収剤として 20% KOH を用いた。測定は酸素消費量測定用容器を 37 恒温水槽に投入し、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た。同一のサンプルに対し 2 回測定を行い、その平均値を IBAT 酸素消費量とした。酸素消費量は、組織の 100mg 湿重量あたり ($\mu\text{l} / 100\text{mg wet tissue} / \text{h}$) で表示した。

統計的処理

各群の平均値と標準誤差を算出した。分散の検定には Bartlett 法を、各群間の平均値の差検定には Duncan の多重比較法を用いた。有意水準は、5%未満 ($p < 0.05$) とした。

3. 結果

体重及び IBAT、肝臓、副睾丸脂肪、腎周囲脂肪の組織重量

10 日間の実験期間終了後の体重を Fig 2 に示した。SHR は WKY に比べ有意に高値を示したが ($p < 0.05$)、カプサイシン投与群と対照群間の差は認められなかった。各群の IBAT 及び肝臓、副睾丸脂肪、腎周囲脂肪の湿重量と体重 100 g 当りの湿重量を Table 2 に示した。IBAT 及び肝臓の湿重量では 4 群間に有意な差は認められなかった。体重 100 g 当りの副睾丸脂肪組織 (mg/100gB.W) では、SHR - Cont (756.5 ± 5 mg/100gB.W) は WKY - Cont (935 ± 6 mg/100gB.W) に比べ有意に低値であった ($p < 0.05$)。また、WKY+カプサイシン (721.2 ± 5 mg/100gB.W) は WKY-Cont (935 ± 6 mg/100gB.W) に比べ有意に低値であったが ($p < 0.05$)、SHR+カプサイシンと SHR-Cont では、群間の差は認められなかった。体重 100g 当りの腎周囲脂肪量 (mg/100gB.W) では、副睾丸脂肪組織と同様に SHR - Cont (660.8 ± 3 mg/100gB.W) は WKY - Cont (1210 ± 1 mg/100gB.W) に比べ有意に低値であった ($p < 0.05$)。WKY+カプサイシン (994.6 ± 8 mg/100gB.W) は WKY-Cont (1210 ± 1 mg/100gB.W) に比べ有意に低い値であり ($p < 0.05$)、SHR ラットでは群間に差は認められなかった。

血清グルコース及び FFA、TG、T-chol 濃度

各群の血清グルコース及び FFA、TG、T-chol 濃度を Table 3 に示した。FFA 濃度は SHR+カプサイシン (25.1 ± 8 Eq/l) が SHR-Cont (18.6 ± 2 Eq/l) に比べ有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。血清グルコース及び TG、T-chol 濃度では、群間に差は認められなかった。体重と血清 TG、WAT (white adipose tissue: 副睾丸脂

肪+腎周囲脂肪) 重量との相関関係を Fig3 に示した。体重と血清 TG ($r = 0.574$)、体重と WAT ($r = 0.872$) 間に有意な正の相関関係が認められた($p < 0.05$)。

IBAT 組織の酸素消費量

IBAT 組織 100mg 湿重量あたりの酸素消費量 ($\mu\text{l/h}/100\text{mg wet tissue}$) を Fig 4 に示した。SHR-Cont ($58.3 \pm 10 \mu\text{l/h}/100\text{mg wet tissue}$) と WKY-Cont ($51.3 \pm 9 \mu\text{l/h}/100\text{mg wet tissue}$) での差は認められなかった。しかし、SHR+カプサイシン ($97.2 \pm 10 \mu\text{l/h}/100\text{mg wet tissue}$) は SHR-Cont ($58.3 \pm 10 \mu\text{l/h}/100\text{mg wet tissue}$) に比べ有意に高値であった($p < 0.05$)、WKY+カプサイシン ($94.0 \pm 10 \mu\text{l/h}/100\text{mg wet tissue}$) は WKY-Cont ($51.3 \pm 9 \mu\text{l/h}/100\text{mg wet tissue}$) に比べ有意に高かった ($p < 0.05$)。IBAT 酸素消費量と体重 TG、WAT の相関関係について Fig5 に示した。IBAT 酸素消費量と体重 ($r = 0.675$)、TG ($r = 0.551$)、WAT ($r = 0.654$)量の間で有意な負の相関関係が認められた($p < 0.05$)。

血圧の変化

SHR 群の収縮期血圧は実験期間中 154mmHg ~ 160mmHg で推移し、101mmHg ~ 110mmHg で推移した WHY 群に比べ、有意に高値を示したが($p < 0.05$)、SHR 及び WKY ラット群ともにカプサイシン投与による血圧への影響は認められなかった (Fig 6)。

4. 考察

近年、カプサイシンはエネルギー消費を促進させる効果があることが報告されており(石井ら、2000)ダイエットの補助食品として注目されている。本研究では、カプサイシンの脂質代謝及び体熱産生などに及ぼす影響を明らかにするため、肩甲骨間褐色脂肪組織 (IBAT) 酸素消費量及び血液成分を中心として検討を行った。Salimath et al. (1987) は、長期間のカプサイシンの添加実験を行った結果、ラットの体重がコントロール食群に比べ有意に低下することを明らかにし、Kawada (1986) は、各体内脂肪組織を分離計測した結果、カプサイシン添加により脂質代謝が亢進され、副睾丸脂肪組織及び腎周囲脂肪組織の重量が有意に低下することを報告している。本実験でのカプサイシン投与期間は短期間 (10 日間) であり、Salimath et al. や Kawada の長時間 (4 週間) の実験期間に比べ非常に短い期間である。そのため肝重量や血清グルコース濃度には変化がみられなかったと考えられる。しかし、WKY,SHR ラット系においてカプサイシン投与による体重減少傾向がみられ、その上 WKY ラットでは腎周囲脂肪や副睾丸脂肪の体内脂肪組織重量を有意に低下させることが示された ($p<0.05$)(Table 2)。また、SHR ラットではカプサイシン投与により血清 FFA 濃度の有意な増加が観察された ($p<0.05$)(Table 3)。これらの結果はカプサイシン投与により脂質の利用が亢進し、全体的な WAT 量の減少及び FFA 濃度の上昇を引き起こしたと考えられる。しかし、SHR ラットでは腎周囲脂肪や副睾丸脂肪の体内脂肪組織重量の変化はみられなかった。これは SHR ラットが WKY ラットと比べ恒常的に脂質代謝の亢進状態にあるため、体内脂肪組織重量が常に低く維持され、WKY ラットよりはカプサイシン投与に対する感受性が低下していたためと考えられる。一方、体重と WAT 及び血清 TG との間に高い正の相

関が認められたことから (Fig 3) 体内脂肪の減少は結果的に体重を減少させ、また血中 TG の濃度も低下させることにより肥満を改善していることが想定される。

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、交感神経は飼料組成の影響を受けることが報告されている (Mercer, 1984)。本研究で飼育過程の飼料組成、すなわち、カプサイシン投与の有無の違いが *in vitro* の系において IBAT の酸素消費量に差が生じさせたことは、カプサイシンが交感神経の興奮水準を変え、IBAT 中のエネルギー基質、ホルモン産生等に影響を及ぼしていることが推察される。肥満により熱産生能力が低下しているラットでは IBAT のグアノシン - 5' - ニリン酸 (GDP) 結合能が低下し、BAT の内因性酸素消費量が低下する (Triandafillou et al., 1983) と報告されていることから、本研究でのカプサイシン非投与対照ラットでは、高脂肪食による体脂肪増加及び BAT の機能低下が想定された。また、内因性酸素消費量は GDP 結合能と同様の傾向を示し、熱産生の指標となりうる。BAT 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 (Glick, 1982) BAT の血流量も高脂肪食の方が低値である。また、人間においても高脂肪食の方が熱産生効果は低いことが示されており、高脂肪食は BAT の機能を低下させる可能性が示唆される (Schwartz, 1985)。本研究では *in vitro* の系にて IBAT 熱産生の指標として酸素消費量を測定しており、インキュベーションメディウムに組織呼吸の調節や、エネルギー代謝に影響ある物質や、ホルモンまたは神経伝達に関連する物質等を添加していないので、組織の酸素消費量の差は組織のもつ貯蔵エネルギー量に起因すると考えられる (Glick, 1981)。本研究で WKY、SHR 両方ともカプサイシン投与群の IBAT の酸素消費量が有意に高く ($p < 0.05$) (Fig 4) 血清 TG や WAT、体重と IBAT の酸素消費量との強い負の相関がみられることから (Fig

3) 本実験のような比較的短期間であっても、摂食によって腸管吸収されたカプサイシンは、IBATの酸素消費量の減少を防ぎ、熱産生の低下を改善していることが推察される。一方、Wildeら(2000)はラットに高脂肪食を長期間投与すると血圧上昇を引き起こすと報告している。本実験ではカプサイシン投与により、脂質代謝が改善され、SHRの血圧上昇が抑制されることを想定して検討を行ったが、カプサイシン投与によるSHRの血圧の変化は認められなかった(Fig 6)。本研究で血圧の改善がみられなかったのは、石井ら(2000)のカプサイシン投与投与開始8週目から血圧上昇抑制効果が出現するとの報告から判断すると実験期間が短期間(10日間)であったことによる可能性も考えられるので、今後さらに検討すべき課題であろう。

以上、短期間(10日間)のカプサイシン投与は、SHRとWKYラットのIBATの酸素消費量及び熱産生能の低下を改善し、WAT重量の増加を抑制する可能性が示唆された。また、短期間のカプサイシン投与では血圧上昇への影響は少ないことが推察された。さらに、SHRは高代謝状態を維持するため、対照ラットに比べ体内脂肪蓄積が抑制されており、カプサイシン投与に対してもWKYに比べ感受性が低下しているものと推察される。

Table 1. Composition of the experimental high-fat diet.

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

¹Oriental Yeast Co., Tokyo, Japan;²Wako Pure Chemical Ind., Osaka, Japan;³Supplied in g/kg diet (except as noted) : CaHPO₄ 2H₂O, 2.91 ; KH₂ PO₄, 5.14 ; NA H₂ PO₄, 1.87 ; NaCl, 0.93 ; Calonne-lactate, 7.02; Ironcitrate, 0.64 ; MgSO₄, 1.43 ; ZnCO₃, 0.022 ; MnSO₄ 4-GH2O, 0.024 ; Cu $\frac{1}{2}$ SO 5 H₂O, 6 ; KI, 0.002.

⁴Supplied in mg/kg diet : (except as noted) : vitamine A acetata, 10 (IU) ; vitamine D3, 0.025(IU);

-tocopheryl acetate, 50 ; vitamine K3, 52 ; thiamin HCl ; 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. ⁵Added in 0.014% diet in place of equal weight of starch in high fat plus capsaicin(98% purity) diet. Purchased from SIGMA. CHEMICAL COMPANY, OSAKA, JAPAN.

Table2. Effects of CAP on IBAT, epididymal and perirenal adipose tissue weights in SHR and WKY rats

	WKY		SHR	
	Cont	CAP	Cont	CAP
Tissue weight (mg)				
Liver	556 ± 12	590 ± 50	610 ± 40	610 ± 30
IBAT	200 ± 7	170 ± 50	190 ± 50	170 ± 70
Epididymal adipose tissue	2140 ± 60	1760 ± 55	1950 ± 49	1880 ± 26
perirenal adipose tissue	2000 ± 67	1650 ± 37*	1850 ± 21	1690 ± 29
Ratio (mg/100gB.W)				
Liver	257 ± 22	236 ± 9	267 ± 18	267 ± 14
IBAT	112 ± 37	97 ± 3	98 ± 46	90 ± 35
Epididymal adipose tissue	935 ± 62	721 ± 47*	757 ± 45*	742 ± 42
perirenal adipose tissue	1210 ± 11	995 ± 84*	661 ± 34*	596 ± 31

Values are expressed as mean ± SEM

Significant difference from the value of WKY-Cont (*; p<0.05)

Cont, capsaicin not administered ; CAP, capsaicin administered

SHR, spontaneously hypertension rat; WKY, Wistar-kyoto rat.

IBAT, Interscapular Brown Adipose Tissue

Table 3. Effects CAP on serum concentrations of glucose, FFA, TG and total cholesterol

	WKY		SHR	
	Cont	CAP	Cont	CAP
FFA (Eq/l)	18 ± 3.0	20 ± 8.0	18.6 ± 1.7	25.1 ± 8.2*
TG (mg/dl)	75 ± 22.6	69 ± 29.4	93.7 ± 14.1	83.3 ± 15.5
T-Cholesterol (mg/dl)	79 ± 22.8	62 ± 37.6	61.7 ± 2.5	57.8 ± 26.0
Glucose (mg/dl)	76 ± 18.1	74 ± 4.3	94.9 ± 5.5	94.7 ± 19.5

Values are expressed as mean ± SD

Significant difference from the value of SHR-Cont (*; p<0.05)

Cont; capsaicin not administrated, CAP; capsaicin administrated

SHR; spontaneously hypertension rat; WKY, Wistar-kyoto rat.

FFA, free fatty acid; TG, triglyceride.

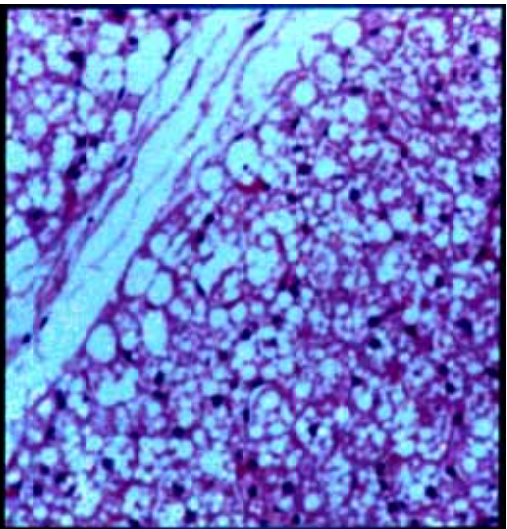


Fig. 1. Paraffin section of rat-interscapular brown adipose tissue stained with hematoxylin-eosin (H.&E.) under the standard conditions. Section shows typical multilocular brown adipose cells, unilocular adipose cells, and blood vessels. Original magnification, x 33.

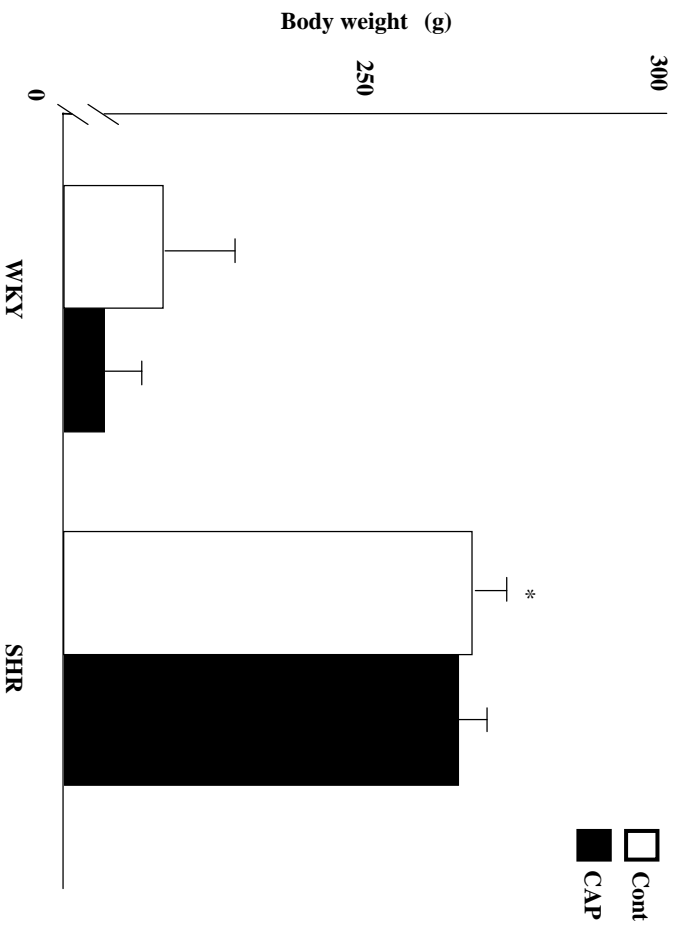


Fig. 2 Body weight in WKY and SHR rats after 10 days of CAP administration.

The vertical bars indicate the standard error of the mean (n=6)

Significant difference from the value of WKY-Cont (* ; p<0.05)

Cont, capsaicin not administered; CAP, capsaicin administered.

SHR, spontaneously hypertension rat; WKY, Wistar-kyoto rat.

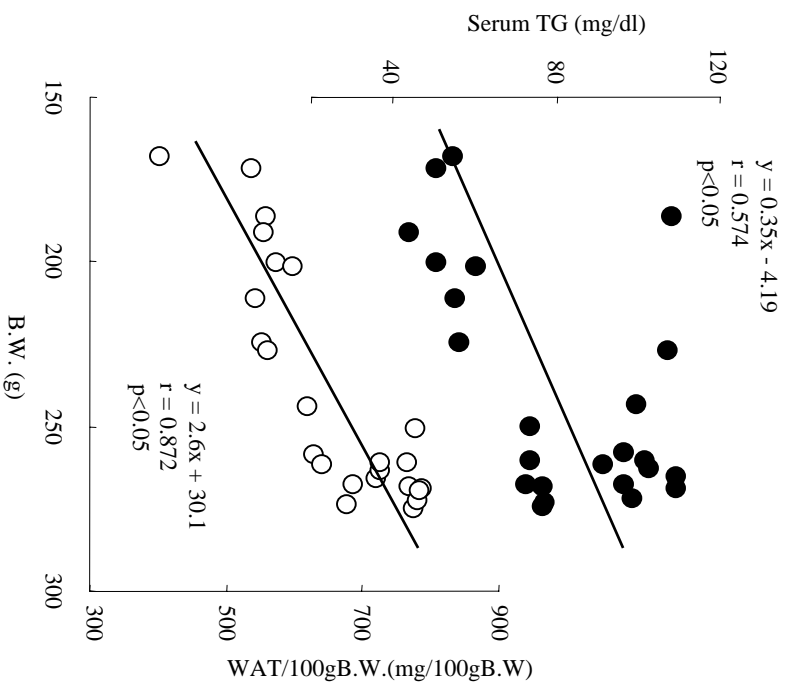


Fig. 3 Relationship between B.W. and serum TG (upper figure), WAT (lower figure). Relationships of each parameter were analyzed with simple linear regression. B.W. positively correlated with serum TG and WAT. B.W., body weight; TG, Triglyceride; WAT, White adipose tissue (perirenal and epididymal adipose tissue weight per 100gB.W.).

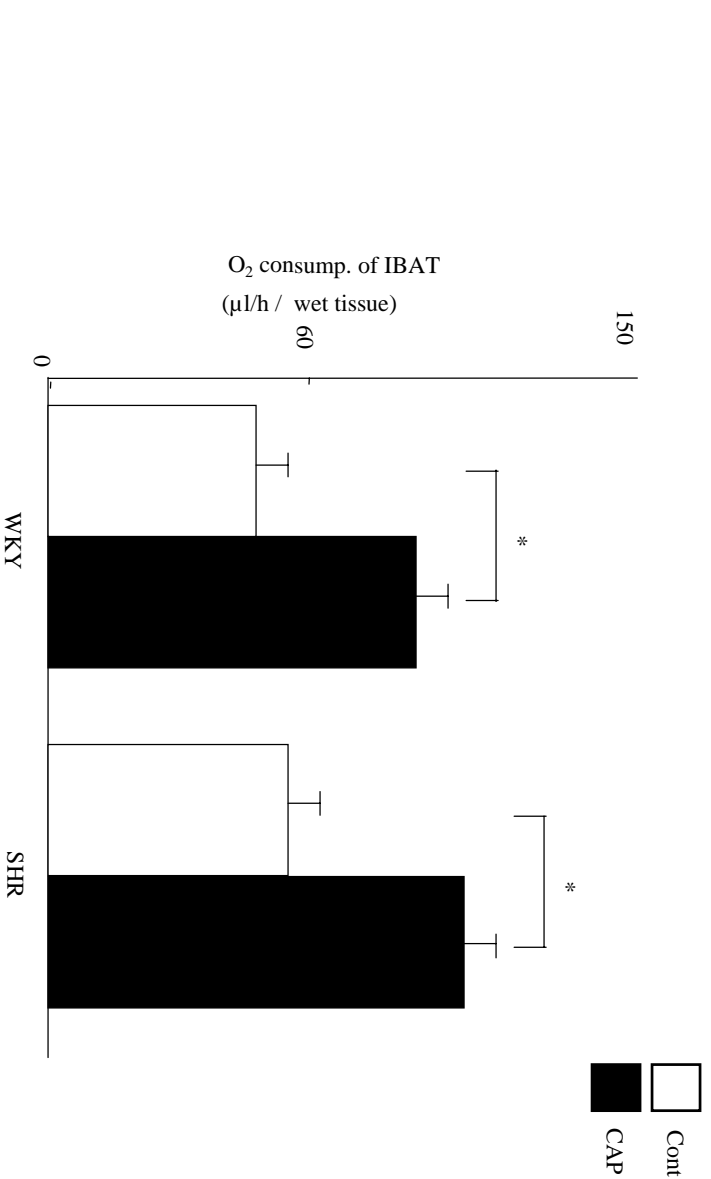


Fig. 4 Effects of capsaicin feeding for 10days on oxygen consumption of IBAT in WKY and SHR rats

The vertical bars indicate the standard error of the mean (n=6)

Significantly different between Cont and CAP group (* : p<0.05)

Cont, capsaicin not administrated; CAP, capsaicinadministrated.

SHR, spontaneously hypertension rat; WKY, Wistar-kyoto rat.

O₂ consump. of IBAT , O₂ consumptions of IBAT per 100g IBAT weight.

IBAT, Interscapular Brown Adipose Tissue

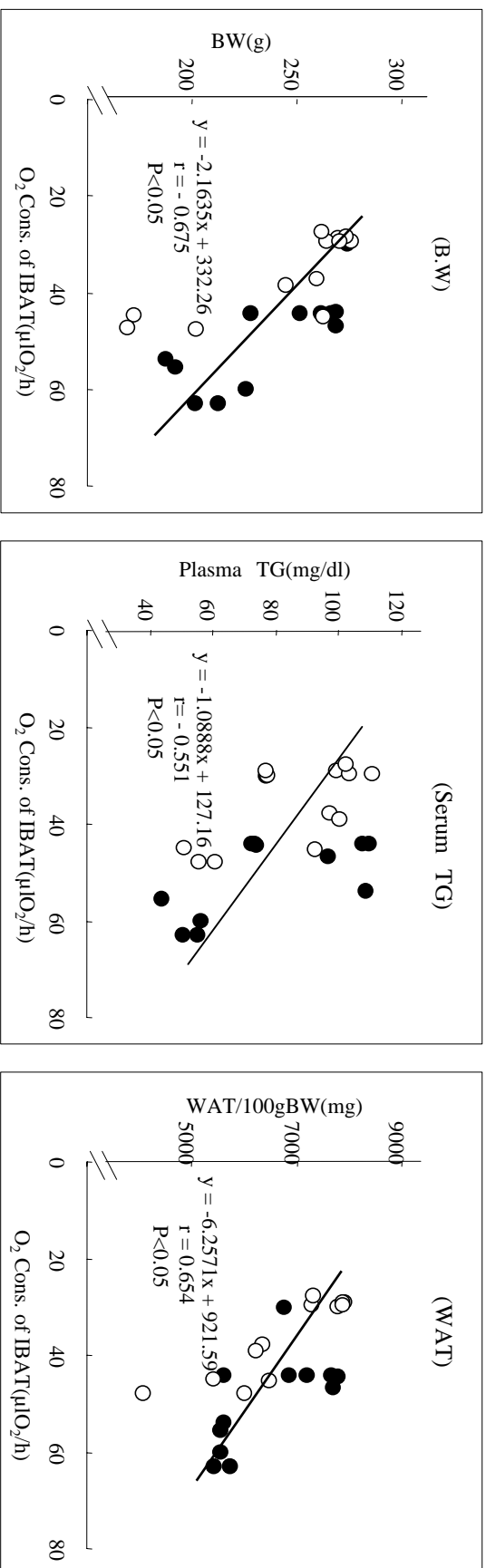


Fig. 5 Relationship between O_2 consumptions of IBAT and B.W. (left figure), TG (center figure), WAT (right figure). Relationships were analyzed with simple linear regression. O_2 cons of IBAT were negatively correlated with B.W., TG and WAT.

B.W., body weight; TG, triglyceride; WAT, white adipose tissue (perirenal and epididymal adipose tissue weight per 100g B.W.); O_2 cons. of IBAT, O_2 consumptions of IBAT per 100g IBAT weight. IBAT, Interscapular Brown Adipose Tissue

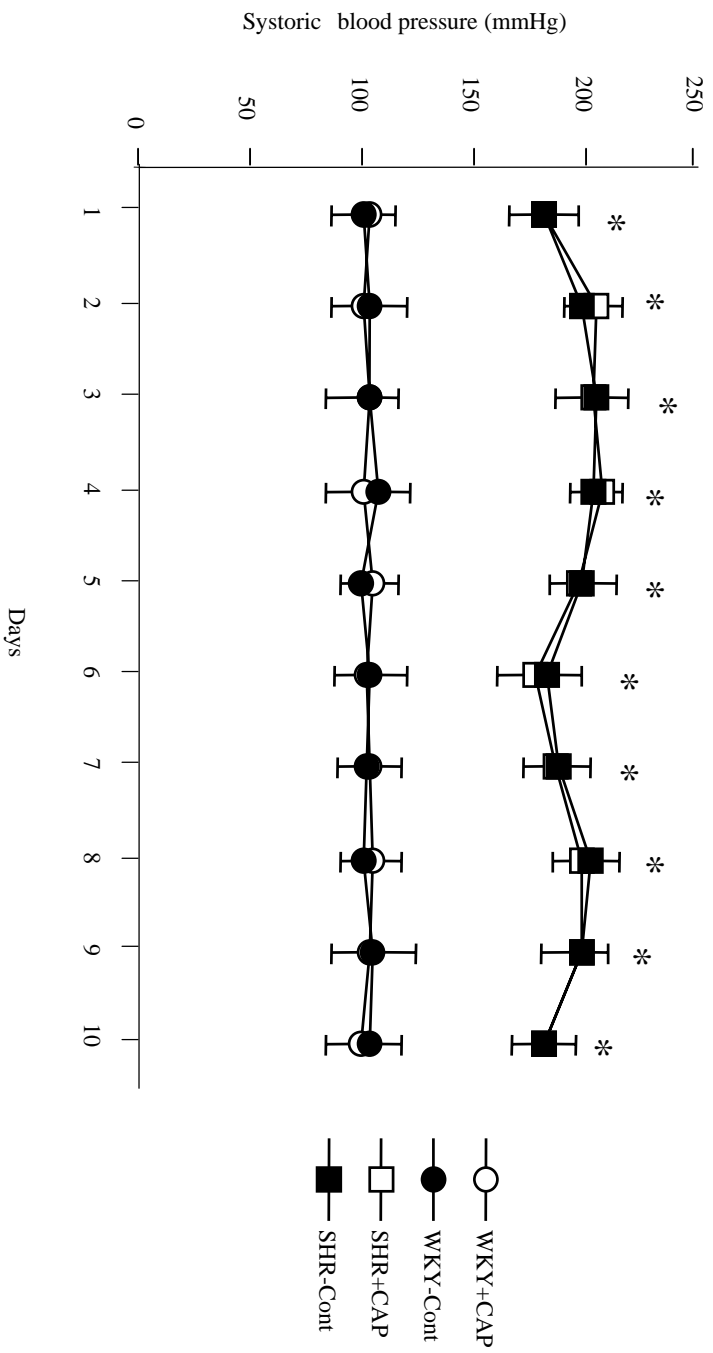


Fig. 6 Effects of CAP on systolic blood pressure.
 The vertical bars indicate the standard error of the mean (n=6)
SHR, spontaneously hypertension rat; WKY, Wistar-kyoto rat.
 Significant difference from the value of WKY rats (*; p<0.05)