

生理学ものがたり最終回

恒温動物および変温動物という名称に関連して思うこと

滋賀医大名誉教授 北里 宏

—たかが名前と思うなかれ—

今年の夏、北海道大雪山系のトモラウシ岳で高年者からなる夏山トラッキングのグループが天候の急変に遭遇し、楽しかるべき旅行が痛ましい結果に終わったことは記憶に新しい。この悲劇はみぞれと強風がもたらした急激な体温降下による神経機能の低下に由来するものであったようである。神経機能の低下は精神活動の低下と運動機能の停止をもたらし、死に到らせる。今から30年ほど前、滋賀県の野洲川に或る暴力団員が密輸品と共に持ち込んだ熱帯の毒蛇を棄てるという事件があった。もしこの動物がそこで繁殖すれば恐るべきことになるかと心配していた。しかしその後、野洲川近辺でその蛇は発見されなかった。野洲川は滋賀県の比較的暖かい湖南地区と北方の日本海側気候の地区とを境する川である。冬、ここを京都方面から米原側へ渡ると急に積雪が認められる。例の熱帯性の爬虫類は、冬の野洲川河原の寒さに耐えられず、死滅したものと思える。

温血動物であろうと冷血動物であろうと、体温が低下すれば生きていくことは出来ない。温血動物では熱放散量を減少させる一方、筋の緊張を高め、あるいは身震いを起こさせ、熱発生量を増加させて体温低下を出る限り小さく抑えようとする自律性の調節機構が働く。その他に、少しでも暖かいところへ移動しようとする意志が働き、その方向へ移動する。すなわち、行動性の調節も行う。冷血動物では暖かい場所に移動するこの行動性調節に頼るのみである。

戦後、気が付くと、温血動物および冷血動物という名称は一斉に恒温動物 (homoiothermy) およ

び変温動物 (poikilothermy) という言葉によって置き換えられていた。戦いに敗れて直ちに歴史教科書のかなりの部分を墨で塗りつぶすように命じられ、あれは間違いであったと教えられたときに感じたものと同じ違和感をおぼえた。人間はとも世の風向きに従ってももの正誤を判断する傾向にあるらしい。正誤判断の基準は幾つかの軸をもつ。それらの軸のうち、時代の傾向あるいは流行に従うものが正とされ、その傾向・流行に逆らうものが誤りとされる。さらに、傾向に従わないものが悪とされることすらある。善悪の問題については、これ以上立ち入らないことにする。ここでは自然科学に話を戻し、生命現象を自然の原理に基づいて理解する道筋を述べることにする。

温血動物は体温が外界より明らかに高い動物である。この動物の体温は比較的安定している。この特徴に注目して与えられた名称が恒温動物である。温血動物の体温は安定しているとは言え、病的な条件下では体温は35℃から42℃の範囲内で変化する。一方、体温が比較的低い冷血動物も体温を或る範囲内に保とうと行動する。例として、海の魚の体温を考えればいい。つまり、温血動物の体温はなるほど比較的安定しているが、逆に体温が安定している動物は必ずしも温血動物ではない。むしろ、温血動物こそ自律的に体温を変化させる動物である。近年、内温動物 (endothermy) という名称が現われ、恒温動物という名称より内温動物という名称の方が多く使われているようである。一方、変温動物という言葉は外温動物 (ectothermy) という言葉によって言い表されることが多いように思える。さらに、iothermal endo-

thermy という言葉さえ使われることがある。内温動物は熱発生量の多い動物であり、この動物の体温は環境温度より高いので、かなりの量の熱が生体から外界へ流れ出る。外温動物と呼ばれる動物でも、少なくとも1日あたりの熱出納を見れば、熱は生体から外界へ流れ出ており、外界から流入した熱が生体内の諸反応を駆動するエネルギーとして利用されることはない。すなわちある条件下で熱が生体に流入することがその動物の本質的な性質ではなく、この動物の熱産生量が内温動物と称せられる動物のそれより格段に少ないことが本質的なことである。熱産生が少なれば体温は低い。外温動物・変温動物の本質的を最もよく表す言葉は体温が低いことを示す冷血動物であり、一方、内温動物・恒温動物の本質的な性質を最も的確に表す言葉は温血動物である。

体温が環境温度より高ければ熱放散量を調節することだけでも体温を安定したレベルに保持することは比較的容易である。体温調節の全般的な観点からすれば熱放散量の調節は重要な分野ではあるが、この稿では熱放散の調節機構には触れず、温血動物である哺乳類における熱産生およびその調節についてのみ考えてみることにする。

1. 生体において発生する熱

生体において発生する熱量は消費エネルギー量とほぼ等しいと言われている。これは大雑把に言ってそうであろう。しかしここで一度、熱発生とエネルギー消費との関係を解析的に考えてみることは無駄ではあるまい。エネルギーは、その系が外界に仕事を為した場合、異なった形のエネルギーに変換された場合、エントロピーが増大した場合、また或る物質の分子内エネルギーに変換された場合を除いて、熱となって散逸する。熱は、エネルギーレベルの高い物質から低い物質に化学的に変化するとき、摩擦が生じた場合、あるいは電気抵抗を有する物質を通して電流(電子の流れ)が流れたときに発生する。生体ではATP分子内に蓄えられているエネルギーあるいは細胞内外のイオン濃度差の形で蓄えられているエネルギーを用いて生命現象が進行する。イオン濃度電池の形

で蓄えられているエネルギーも根源的にはATP分子内に蓄えられている分子内エネルギーが電気化学エネルギーに変換されたものである。したがって、まずATP消費の際に発生する熱を考え、次にATP合成に伴って発生する熱を考えることにする。

a) ATP消費に際して発生する熱

エネルギー消費量は仕事量であらわされる。仕事量は、力が働いている場において、その力に抗して動かした距離と力との積で以って表される。重力が働いている場において、本を10cmだけ上に持ち上げたとすればこの本の重量×10cmだけの仕事をしたことになる。この本が棚の上に留まっていれば何の仕事にしたことにならない。ところが生体においてはその本を持ち上げ同じ位置に保持していても疲れる。すなわちエネルギーを消費する。これは等尺性収縮と呼ばれる状態である。等尺性収縮では物を移動させなくても、エネルギーは消費される。この場合、本の重さに見合う張力が筋線維に発生し、これがアクチンとミオシンとの結合を引き裂くように働く一方、新たにアクチンとミオシンとの結合が次々と起こる。つまり泥土の中でブルドーザーが壁を押しているようなものである。燃料を消費し、壁を押す力は発生するが、消費したエネルギーはブルドーザーのキャタピラーが押し動かした泥土間の摩擦の中に消え失せ、ブルドーザーの努力は仕事にはならない。物質の移動と言う意味では等尺性に収縮している筋は仕事をしていないが、エネルギーを消費する。アクチンとミオシンとの結合を引き裂くことは一種の摩擦であるので、ここに熱が発生する。アクチンとミオシンの結合はATPを消費する化学反応であるので、消費されたATPの分子内エネルギーの分だけ熱が発生する。

次に神経の活動と熱発生との関係を考えてみよう。神経線維においては活動電位が発生し、これが情報を担う信号となる。活動電位の脱分極相においては Na^+ が流入し、再分極相においては K^+ が流出する。 Na^+ の流入は内向きの電流を運ぶが、これはエントロピーの増大を伴うものである。熱は殆ど発生しないであろう。また K^+ の流出もエ

ントロピーの増大を伴うものである。これ自体熱を殆ど発生しないと考えられる。しかし活動電位の伝導にともなう細胞内外液を流れる局所電流は、僅かではあるが、抵抗性 (ohmic) の熱を発生する。Na⁺の流入およびK⁺の流出はNa⁺/K⁺濃淡電池に蓄えられたエネルギーを消費するものであり、細胞内Na⁺濃度の上昇および細胞内K⁺濃度の低下はATPをエネルギー源とするNa⁺/K⁺ポンプの活動を促進す。Na⁺/K⁺ポンプの活動の効率は非常に高いので、このポンプにおいてATPが消費されても熱は殆ど発生しないと考えられる。

上皮細胞層を貫く溶液の輸送においてもNa⁺およびK⁺の受動的な移動と上皮細胞基底膜におけるNa⁺/K⁺ポンプが大きな役割を果たしている。この場合も神経細胞における場合と同様にイオンの受動的な移動は熱を発生するものではなく、Na⁺/K⁺ポンプの活動も熱を殆ど発生しない。蛋白質、多糖類、および脂質の合成もATPを消費するが、ATP分子内のエネルギーの大部分は合成反応生成物の分子内エネルギーとして保存され、熱として散逸する量は少ない。

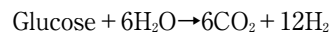
神経の活動、溶液の輸送活動、および生体必要物質の合成自体に伴う熱発生量はATP消費量の割に少ないが、ATPの分解の結果生じたADPが酸化的磷酸化反応を促進し、消費された量に匹敵する量のATPがその細胞のmitochondriaにおいて合成される。この過程においては無視できない量の熱が発生するので、神経に活動電位が発生した場合も、筋が活動した場合ほど多くはないが、活動電位発生の頻度に応じて熱が発生する。熱意として言い表されている精神活動の背景にはこの現象がある。

b) ATP合成に伴って発生する熱

(b-1) NADH₂⁺生成の効率：

Mitochondria内において重要な役割を果たしている nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) には酸化型と還元型とがある。還元型は通常水溶液中においてNADHとH⁺に解離おり、この物質をNADHと書き表すのが普通である。しかし水素分子の授受の観点からすると、NADH₂⁺と記し

た方が水素分子の移動を理解し易いので、この稿では全体を通して還元型NADをNADH₂⁺と書き表すことにする。なお、酸化型はNAD⁺である。ATPの大部分はmitochondriaにおける酸化的磷酸化反応によってADPと無機磷酸Piから合成される。酸化的磷酸化反応は1対のH₂・2H⁺酸化還元電池から構成されるH₂燃料電池内に蓄えられた電気化学的エネルギーを用いるADP磷酸化反応である。ADPの磷酸化反応自体はATPの加水分解の逆反応である。この反応を進行させるには、H₂燃料電池が必要である。H₂電池に必要なH₂はグルコースあるいは脂質の炭素原子に酸素が結合してCO₂が生じた(燃焼した)ときに放出されるエネルギーを用いて水を化学的に分解することによって得られる。グルコースの燃焼による水の分解を下に示す。



グルコースの燃焼による水の分解は解糖系およびTCAサイクルにおいて進行する。グルコース1分子が燃焼し、CO₂が発生する過程において6分子の水が分解され、グルコース分子内にあった12個のH原子と6分子の水の12個のH原子から合計12個のH₂分子が生じる。このうち10分子のH₂は10分子のNAD⁺に受け取られ、10分子のNADH₂⁺が生じる。残りの2分子のH₂はFADに受け取られ2分子のFADH₂が生じる。1分子のNADH₂⁺が酸化されNAD⁺に変化する過程において3分子のADPが磷酸化されて3分子のATPが生じる。これに対して、FADH₂が酸化され際には、1分子のFADH₂当たり2分子のATPが生じるに過ぎない。しかし解糖経路におけるphosphoenolpyruvateからpyruvateに変化する過程において1分子のATPが発生するので、1分子のグルコースが燃焼する度に、36個のATPが生じることになる。すなわち、全体として、1分子のグルコースが燃焼し水が分解される過程において生じる12分子のH₂の全てがNAD⁺に受け取られ、各NADH₂⁺分子のH₂が酸素と結合して水となるときに放出されるエネルギーを利用して3分子のATPが合成されるとみなせる。



$$12 \times 3\text{ATP} = 36\text{ATP}$$

NADH_2^+ は mitochondria の matrix において TCA サイクルの各反応中間産物から H_2 を受け取り、貯蔵しているタンクのようなものである。 NADH_2^+ の酸素に対する親和性は非常に高い。つまり NADH_2^+ は H_2 を容易に離す。1気圧の酸素が存在すると NADH_2^+ は殆ど全て酸化されて NAD^+ に変化する。1モルの NADH_2^+ が1モルの NAD^+ に変化するときに放出される自由エネルギー ΔG° は 52kcal である (Lehninger, 1971)。つまり1モルの NAD^+ が H_2 を受け取り NADH_2^+ の形として分子内に蓄積しているエネルギーは 52kcal である。したがって12モルの NADH_2^+ が分子内に蓄積しているエネルギー量は

$$12 \times 52\text{kcal} = 624\text{kcal}$$

である。一方、1モルのグルコースが燃焼した際に放出される自由エネルギー量は 686kcal であるので (Leninger, 1971)、グルコース燃焼の際に放出されるエネルギーを利用する NADH_2^+ 生成の効率は

$$\text{NADH}_2^+ \text{生成効率} = 624/686 = 0.9096$$

となる。つまりグルコース燃焼のエネルギーを NADH_2^+ 分子内エネルギーに変換する効率はきわめて高く、この過程において発生する熱はグルコース燃焼の際に放出される全エネルギー量の僅か9%程度である。

(b-2) NADH_2^+ 分子内に蓄えられた energy を ATP 分子内 energy に変換する効率：

生理的な状態において1モルの ATP が加水分解を受けて ADP と無機リン酸に分解する過程において放出されるエネルギー量についてはさまざまな報告があり、その値は 12kcal から 16kcal の範囲にある。ここでは $14\text{kcal}/\text{mole}$ とする。1分子の NADH_2^+ が2個の H 原子を失って NAD^+ になる際に3分子の ATP が合成されるので、ATP 分子内エネルギーに変換され保存されたエネルギーの量は

$$3 \times 14\text{kcal} = 42\text{kcal}$$

である。1分子の NADH_2^+ が NAD^+ に変化する際に放出されるエネルギー量は既に述べたように 52kcal であるので、 NADH_2^+ 分子内エネルギーが

ATP 分子内エネルギーに変換される効率は

$$42/52 = 0.8077$$

である。 NADH_2^+ の分子内エネルギーが ATP 分子内エネルギーに変換される効率はグルコース分子内エネルギーが NADH_2^+ 分子内エネルギーにされる変換に較べて低い。これは ATP 合成反応が単純な化学反応でないことを物語っているであろう。

(b-3) 酸化的リン酸化反応の効率：

グルコースが1分子燃焼するたびに36分子の ATP が合成される。生理的条件下における ATP1分子の分子内エネルギーは 14kcal であるとする。ATP という形の分子内エネルギーに変換され保存されたエネルギー量は $36 \times 14\text{kcal} = 504\text{kcal}$ である。グルコースが完全に酸化された際に放出されるエネルギーは 686kcal であるので、 $686\text{kcal} - 504\text{kcal} = 182\text{kcal}$ のエネルギーが散逸したことになる。これが熱として散逸したエネルギーである。

酸化的リン酸化反応をもう一度、各過程に分けて考えて見ることにする。グルコース1分子が水溶液中において6分子の水を分解し、6分子の CO_2 が発生する間に、12分子の NAD^+ 分子が12分子の H_2 を受け取り、12分子の NADH_2^+ が生じる。この段階では外界の酸素は消費されない。ADPのリン酸化反応が起こるとき、 NADH_2^+ に蓄えられた H_2 が酸素と結合して水となる。すなわちこの段階ではじめて酸素は消費される。1分子の NADH_2^+ が酸化される際に消費される酸素は1原子であり、水の生成と共役して3分子の ADP がリン酸化される。なお、 NADH_2^+ の酸化は ADP が存在して始めて進行する。この ADP の作用を“ADP の呼吸調節作用”という。また、2個の H^+ が mitochondria 外から matrix に流れ込むたびに1個の ADP がリン酸化される。 NADH_2^+ の水素1分子が酸化される度に3分子の ADP がリン酸化されることは、NADH 脱水素酵素とシトクローム酸化酵素との間にパラレルに3本電子伝達系がカスケード状に存在し、1分子の NADH_2^+ が酸化される度に6個の H^+ が F_1ATPase を通過することを意味している (図1参照)。

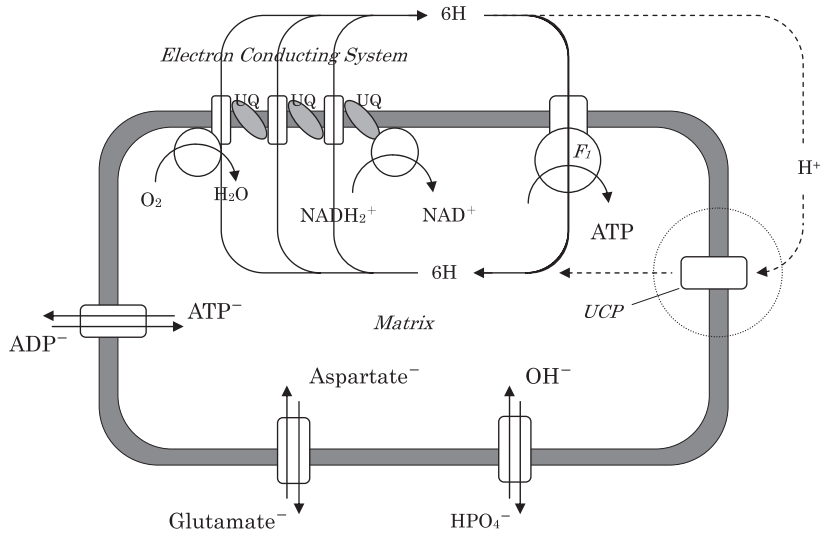


図1 褐色脂肪細胞 mitochondria 内膜の電子伝達系, ATP 合成系, および脱共役蛋白 (UCP1) との関係.

褐色脂肪細胞 mitochondria に脂肪酸を与えると脱共役が起こる. 脱共役には UCP の他に膜の脂質 2 分子層部分も関与していると思える. 外液の脂肪酸が極めて低く、mitochondria に酸素が十分に供給されている条件下では、mitochondria 内は細胞質 (外側) に対して大きく電氣的に負であり、ATP が合成される. 外液に脂肪酸を加えると、脱分極し、酸素消費が増加する一方、ATP 合成は停止する. Mitochondria 内膜には、ADP/ATP 交換輸送系、 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{OH}^-$ 交換輸送系、glutamate/aspartate 交換輸送系、をはじめ幾つかの交換輸送系およびイオンチャンネルがある.

Matrix に流入した 6 個の H^+ のうち 4 個の H^+ は電子伝達系の matrix 側界面において H_2 分子となり、ubiquinone 系を通して隣接する電子伝達系の外膜側界面に拡散し、ここで電子を放して 2 個の H^+ となって外膜側溶液へ出て行く. 最後の 2 個の H^+ は最後の電子伝達系の matrix 側界面においてシトクローム酸化酵素の存在のもとに酸素と結合して水となる. mitochondria において消費された酸素原子の数で磷酸化された ADP の数を割ったもの、P/O 比、は共役の指標として用いられる. 通常この値は 3 である. さきに述べたように、グルコースと水から NADH_2^+ が生成する過程における分子内エネルギー変換の効率は 0.9096 であり、 NADH_2^+ 分子内エネルギーを 3 分子の ATP 分子内エネルギーに変換する効率は 0.8077 であるので、全体としての酸化的磷酸化反応の効

率は、

$$0.9096 \times 0.8077 = 0.7347 \text{ である.}$$

Mitochondria における酸化的磷酸化の効率は熱機関の仕事効率に較べると驚くほど高い. しかしそれでも、グルコースが酸化的磷酸化反応を駆動する燃料として消費される間に、182kcal/mole glucose の熱が発生することを示している. 神経線維の活動それ自体は殆ど熱を発生しないが、活動電位発生後の Na^+/K^+ pump の活動の結果として上昇する細胞内 ADP 濃度の上昇は酸化的磷酸化反応の亢進を来し、酸化的磷酸化反応において熱が発生するので、神経活動の消費エネルギー 1kcal あたり、少なくとも

$$0.2653/0.7347 \times 1\text{kcal} = 0.3611\text{kcal}$$

の熱が発生する. 消化液の分泌および消化管内の溶質吸収の場合にもこれに相当する大きさの熱が

発生する。神経の場合と異なり、筋の収縮においては筋収縮自体が熱を発生するので消費エネルギー 1kcal あたり 1.3611kcal の熱が発生する事になる。すなわち、グルコースの燃焼に際して放出されるエネルギーの殆ど全てが熱となって散逸する。外気温が低下したとき、寒さを感じるとともに筋の張力が増加し、震えが生じることは熱発生量を増加させることによって体温低下を防止する上で、合目的な反応である。また、感染症罹患時に発熱に先立って寒気を覚えると共に震えが生じることも体温を上昇させる自律的な合目的反応である。

2. 熱発生を目的とする組織—褐色脂肪組織

a) mitochondria の膜電位と H⁺コンダクタンス

ATP 消費が増加しなくても熱を発生する組織がある。寒冷に馴化した小型哺乳類、生後まもない動物、あるいは冬眠する動物では褐色脂肪組織が発達している。人間においても新生児期において褐色脂肪組織は発達している。褐色脂肪組織は肩甲骨間にあり、成長と共に次第に退化する。この組織は既に 1551 年に C. Gesner によって記載されたとされている。当時その機能は不明であった。1950 年台においても褐色脂肪組織は冬眠に関係する内分泌線の一つと考えられ、hibernating gland と呼ばれていた。1960 年台に至り、寒冷に曝されたラットの褐色脂肪組織が noradrenaline に反応して熱を発生すること (Smith, 1961; Smith, & Roberts, 1964)、寒冷馴化とともに褐色脂肪細胞が増殖すること (Cameron & Smith, 1964)、甲状腺線ホルモンによって熱発生が増加すること (Smith, 1964)、この組織の mitochondria に ADP の呼吸調節作用が見られないこと (Smith, et al., 1966)、また noradrenaline が mitochondria の脱分極を引き起こすこと (Horwitz, et al., 1969) が SmithRE のグループによって次々と明らかにされた。これより少し前、肝細胞および褐色および白色脂肪細胞の mitochondria に脂肪酸を与えると酸化的燐酸化反応における P/O 比が低下することが Lepkovsky ら (1959) によって

報告されている。Mitochondria 内膜には電子伝達系の他に H⁺の通路を形成する F₀蛋白および ATPase 活性を持つ F₁因子からなる複合体があり、その他に ADP/ATP 交換輸送担体、H₂PO₄⁻/OH⁻交換輸送担体等の陰イオン交換輸送系がある (図 1 参照)。Matrix 側表面の F₁因子において生成した ATP は、ATP/ADP 交換輸送系を介して細胞質の ADP と交換に細胞質へ出る。また matrix の OH⁻と交換に H₂PO₄⁻が細胞質から mitochondria 内に流入する。

Mitochondria 内膜に F₁, F₀複合系のバイパスとなる H⁺通路が出来ると、ATP 分子内エネルギーに変換されなかったエネルギーは、熱となって散逸すると考えることは極めて自然であるので、褐色脂肪組織における熱発生に関する研究が始まった頃、脂肪酸が内膜に溶け込み H⁺ carrier となり、内膜の H⁺透過性を上昇させ、熱発生を引き起こすと単純に考えられていた。しかし uncoupling protein (thermogenin) が発見されて以後、内膜における褐色脂肪細胞 mitochondria の H⁺透過はそのような簡単なものではないことが次第に明らかとなってきた。これについては後ほど詳しく述べることにする。褐色脂肪細胞における熱発生が脂肪酸の脱共役作用によるものとする考えを確立するには、先ず第 1 に脂肪酸による H⁺コンダクタンスの上昇を実証しなければならない。Mitochondria 内外の H⁺濃度および膜電位を測定することは可能であるとしても、H⁺電流を測定することは極めて遥に困難な仕事である。

Mitochondria 内膜にはイオン能動輸送系はなく、mitochondria は閉じた系であるので、mitochondria 内膜を貫いて流れる電流は H⁺によって運ばれる電流と電子の流れによって運ばれる電流だけであり、この電流の和は 0 である。すなわち、電子の流れによって運ばれる電流は、H⁺によって運ばれる電流の方向とは逆であり、大きさは等しい。この関係から、定常状態における mitochondria の膜電位 E を表す式は次のように導かれる。

$$E = \frac{g_H}{g_H + g_{electron}} E_H + \frac{g_{electron}}{g_H + g_{electron}} E^0 \quad (1)$$

表1 肝細胞および褐色脂肪細胞 mitochondria の H⁺コンダクタンスに及ぼす albumin および GDP の影響.

Tissue	Additions	O ₂ consumption (nmol/min/mg)	E-E _H (mV)	Effective g ^H (nmol/min/mg/mV)	Relative g ^H
liver	None	12	- 226	0.21	0.006
BAT	None	61	< - 10	35	1
BAT	albumin 5mg/ml	140	- 80	7	0.2
BAT	GDP 1mM	65	- 140	1.9	0.0543
BAT	albumin + GDP	48	- 220	0.88	0.0251

肝細胞 mitochondria はラットから取り出したものであり、褐色脂肪細胞はハムスターのものである。酸素消費量は酸素電極をもちいて記録された酸素分圧の低下速度から得られたものである。膜電位は valinomycin 法を用い K⁺-free 溶液に浮遊させているときの ⁸⁶Rb の分布から計算したものである。なお、H⁺コンダクタンスの計算に用いた H⁺フラックスの値は Mitchell & Moyl (1967) のモデルにしたがい酸素消費量から推定したものである。Mitochondria 内外の H⁺濃度比は弱酸および弱塩基の分布から推定したものである。Nicholls (1974a, 1974b) によって報告された値を表にまとめたものである。詳しくは本文を参照されたい。Albumin は溶液中の脂肪酸を吸着する。

ただし、E⁰は電子伝達系を通る電流が0である場合の膜電位、すなわち g_H=0 である場合の膜電位であり、次の内容をもつ。

$$E^0 = E_H + \frac{RT}{2F} \ln \frac{[H_2]_{matrix}}{[H_2]_{outer}} \quad (2)$$

なお、各電子伝達系の matrix 側界面における H₂濃度と外膜側界面における H₂濃度の比の対数は次のように表せる。

$$\ln \frac{[H_2]_{matrix}}{[H_2]_{outer}} = \frac{1}{3} \ln \frac{[H_2]_{cytochrome\,oxidase}}{[H_2]_{NADH\,dehydrogenase}} \quad (2b)$$

上式は NADH 脱水素酵素とシトクローム酸化酵素との間に3本の電子伝達系がある場合の各電位差である。[H₂]_{cytochrome oxidase} は酸素側に最も近い電子伝達系の matrix 側界面における H₂濃度であり、[H₂]_{NADH dehydrogenase} は最も NADH dehydrogenase 側の電子伝達系外膜側界面における H₂濃度である。

b) H⁺コンダクタンスと熱発生

褐色脂肪細胞 mitochondria 浮遊液にアルブミンを加え、浮遊液中の脂肪酸を吸着させると脱共役の程度が減少し、更に数 mM の ATP あるいは GDP が存在すると、脱共役された状態が共役された状態に戻る (Guillory & Racker, 1968; Rafael, et al, 1969)。脂肪酸による脱共役が明らかになっ

たとき以降、褐色脂肪組織 mitochondria における熱発生は脱共役の程度を指標として調べられるようになった。

H⁺に働く駆動力は膜電位の値と mitochondria に関する H⁺平衡電位の値がわかれば計算される。Nicholls は mitochondria を K⁺-free 溶液に浮遊させ、valinomycin 存在下で carrier-free の ⁸⁶Rb⁺を平衡させ、mitochondria 内外に分配された ⁸⁶Rb⁺の濃度比から膜電位を計算し、また [³H] アセテートおよび [¹⁴C] メチルアムモニウム・イオンの褐色脂肪細胞 mitochondria 内外のそれぞれの分布濃度から mitochondria 内外の H⁺濃度比を推定し、浮遊液中にアルブミンおよび GDP が存在する条件下では肝細胞 mitochondria における H⁺駆動力 (E-E_H) が約 -226mV であることを報告している (Nicholls, 1974a)。分離直後の褐色脂肪細胞 mitochondria の H⁺駆動力の値は -10mV より小さいが、アルブミンを加えるとこれは -80 mV となり、アルブミンと GDP を一緒に浮遊液液に加えると、-220mV となる (表1)。また、呼吸基質のさまざまな濃度における酸素消費速度と H⁺駆動力を測定し、酸素消費速度を横軸にとり H⁺駆動力をプロットすることにより酸素消費速度は H⁺フラックスの大きさに比例することを明らかにした上で、酸素消費速度から H⁺フラックス

の値を推定し、酸素消費速度から推定したH⁺フラックスとH⁺駆動力の値を用いてH⁺コンダクタンスを計算して褐色脂肪細胞 mitochondria のH⁺コンダクタンスが肝細胞 mitochondria のH⁺コンダクタンスより遥に高いと推論している (Nicholls, 1974b).

褐色脂肪細胞 mitochondria に脂肪酸を与えるるとH⁺コンダクタンスが増大することは、F₀-F₁ ATP合成系を貫く通路とは別に、新たにH⁺が通りうる通路が出来ることを示している。この通路が開くことによって、通常細胞の mitochondria においてADPの磷酸化反応が進行している場合より遥かに大きな電流が流れ、電子伝達系を通る電流は増大する。電子伝達系を流れる電流の増大は電子伝達系内において発生するジュール熱(R²)の増大を来す。この熱が褐色脂肪細胞 mitochondria において発生する熱である。電子伝達系において発生する熱量Qは次のように表される。

$$Q = R_{electron} \times I_{electron}^2 \quad (3a)$$

$$Q = g_{electron} \left[-\frac{g^H}{g^H + g_{electron}} \frac{RT}{2F} \ln \frac{[H_2]_{matrix}}{[H_2]_{outer}} \right]^2 \quad (3b)$$

Mitochondria に流れ込んだH⁺は電子伝達系のmatrix側界面においてH₂となり、このH₂は最終的には、cytochrome oxidaseの存在下、平衡に非常に近い状態において細胞質から拡散してきた酸素と結合して水になる。一方、電子伝達系のNADHdehydrogenaseに最も近い外膜側界面においては、matrixのNADH₂⁺からuniquinone介してH₂が供給され、これが2H⁺となって外側溶液に出て行く。電子伝達系の両界面でおこる化学反応は準平衡状態にあるので、この両界面では反応が進行しても熱は殆ど発生しない。

c) Uncoupling protein (UCP) の精製, アミノ酸配列の決定

褐色脂肪細胞 mitochondria における脱共役の程度は他組織の mitochondria に較べて非常に大きいので、褐色脂肪細胞 mitochondria には脱共役に関与する蛋白分子が大量に存在することが予想

された。Nichollsらは褐色脂肪細胞 mitochondria に Purine nucleotide を与えるとH⁺コンダクタンスが大きく低下することに注目し、褐色脂肪細胞 mitochondria から8-azide-adenosine [γ -³²P] triphosphate と結合する分画を分離・精製し、この物質が32kDaの膜蛋白であることを明らかにした (Heaton et al, 1978)。この蛋白は褐色脂肪細胞にのみ存在し、mitochondria の膜蛋白の10~15%を占める (Nicholls, et al., 1978)。褐色脂肪細胞 mitochondria において見出されたこの32kDa膜蛋白はthermogeninあるいはuncoupling protein (UCP)と呼ばれた。1990年後半に入り、分子生物学的技法の発達に伴ってこれと近縁の膜蛋白が次々と発見されたので、褐色脂肪組織 mitochondria において最初に同定された32kDa膜蛋白はUCP1と名付けられている。

ところで、全ての mitochondria にADP/ATP対向輸送担体がある。1970年台、mitochondria 内膜のADP/ATP交換輸送蛋白の精製がMünchenのKlingenbergらによって進められていた。この蛋白はADPおよびATPと特異的に結合する。ADP/ATP交換輸送は植物グリコシッドであるattractylateおよび抗生物質であるbongkrekic acidによって特異的に抑制されるので、Klingenbergらは[³⁵S]carboxy-attractylateを結合させた mitochondria を可溶化し、これを指標として、hydroxylapatiteカラムで分画した後、agaroseゲルおよび電気泳動法を用いADP/ATP交換輸送蛋白の精製に成功した (Riccio, et al., 1975)。さらに、精製されたADP/ATP交換輸送蛋白を用いて抗体を作成し、このADP/ATP輸送蛋白が全ての mitochondria に存在することを証明している (Eiermann, et al., 1977)。この膜蛋白は297個のアミノ酸からなる分子量32,906のpolypeptideの2量体である (Aquila, et al., 1982,). ADP/ATP交換輸送蛋白はアミノ酸配列が決定された最初の mitochondria 内膜輸送蛋白である。その後、KlingenbergらはADP/ATP carrier蛋白精製に開発した技術を用いて、ハムスター褐色脂肪細胞 mitochondria から脱共役に関与する膜蛋白(uncoupling protein)を精製し、アミノ酸配列を決定した

(Aquila, Link, & Klingenberg, 1985). 化学的方法で得られたアミノ酸数は306であり、分子量は33,215である。ADP/ATP carrier 蛋白と褐色脂肪細胞 mitochondria の uncoupling 蛋白とは大きさにおいてよく似ている。この1年後の1986年、Bouillaud, Weisenbach, & Ricquier はラット褐色脂肪細胞から作製したUCPのcDNAからアミノ酸配列を読み取り、この分子は306アミノ酸残基からなる6回貫通型であり、分子量は33,042と報告している。これらはKlingenbergによって報告されたものと一致する。この膜蛋白もADP/ATP交換輸送蛋白と同様に2量体を形成しているようである。なお、ADP/ATP交換輸送体は陰イオン交換輸送体である。

3. 熱発生の調節

a) mitochondria 内膜のH⁺コンダクタンスとUCPとの関係

外気温が快適な温度より5~6℃も低下すると、次第に筋の緊張が高まり、ついで震えが起こる。ネズミでは数時間内に震えは収まり、寒冷に耐え、体温を維持することができる。また比較的低い室温に慣れさせておくと、快適な室温に戻した後、ふたたび前と同じ室温を下げて震えは起こらない。温度に対する反応には急速に起こる現象とそれより遅れて起こる現象とがある。前者は細胞質における自由脂肪酸濃度の上昇と関連した現象であり、後者は慣れと呼ばれるものである。慣れは褐色脂肪細胞 mitochondria 内膜におけるUCP密度の上昇に関連した現象である。ここでは脂肪酸濃度上昇と mitochondria 膜のH⁺コンダクタンスとの関係を検討することにする。

褐色脂肪細胞にのみUCP1が認められること、またucp geneをノックアウトしたマウスの褐色脂肪細胞 mitochondria は脂肪酸に全く反応しない(Matthias, et al., 2000)ことから、熱発生にUCP1が不可欠であるという点については疑問の余地はない。褐色脂肪細胞 mitochondria 膜のH⁺コンダクタンスが他の mitochondria 膜のH⁺コンダクタンスより格段に大きいと推定されたことは、UCP1内にH⁺チャンネルがあることを考

えさせる。Mitochondria 浮遊液に purine nucleotide (ATP, ADP, GDP) を加えると酸素消費速度が低下することは、purine nucleotide がUCPに結合すると、H⁺チャンネルが閉じると考えさせる。しかし問題は、褐色脂肪細胞 mitochondria に purine nucleotide を加えておいても、脂肪酸を与えると mitochondria 膜のH⁺コンダクタンスが増大する(Locke, et al., 1982)という現象とUCPとの関係である。

細胞内には通常2~3mMのATPが存在する。これは殆どすべてのUCPをATPと結合した状態にするのに十分な濃度である。もしH⁺が膜に既に埋め込まれているUCPのみを通して移動するものであれば、脂肪酸による mitochondria 膜H⁺コンダクタンスの上昇は、ATPによって閉ざされているH⁺チャンネルを脂肪酸が開いた状態へ変化させることを意味していると考えさせる(図2A(b))。しかし purine nucleotide と脂肪酸との間に競合関係は認められていない。視野を広げて考えることにする。H⁺コンダクタンスは膜にあるH⁺チャンネル蛋白の数だけでなく膜を形成する脂質2分子層に自由に溶解込みH⁺担体となりうる脂溶性分子の数にも依存する、という可能性もある。もし脂肪酸が内膜に溶解込みH⁺を運ぶ担体として働くならば、脂肪酸濃度の上昇はH⁺コンダクタンスの上昇をもたらすであろう(図2A(a)参照)。しかし、電荷を持つ長鎖の脂肪酸が脂質2分子層に溶解込み flip-flop を繰り返す可能性は極めて低い。さらにその様な担体が存在するならば、UCPの役割について十分に納得出来る説明が与えられなければならない。以上の点を考慮に入れると、次のモデルが考えられる(図2B)。すなわち、細胞質の脂肪酸陰イオンがH⁺と結合して電氣的に中性の形となり(すなわちこの形のものは電流を運ばない)、これが脂質層に溶解込み濃度勾配にしたがって内膜を貫き matrix 側に拡散し、matrix 側界面においてH⁺と脂肪酸陰イオンに解離し、脂肪酸陰イオンはUCP内の陰イオンチャンネルを通して細胞質へ戻る。全体としてH⁺が細胞質から matrix に流れるというものである。同様のモデルはSklachev(1991)によっても提唱されて

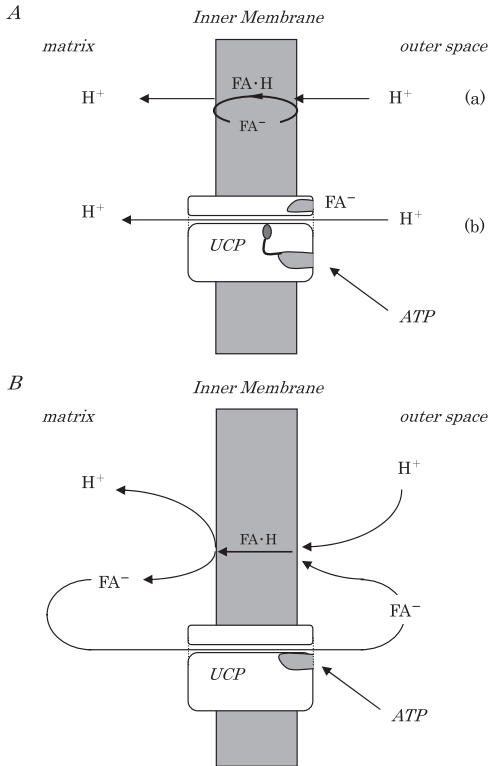


図2 褐色脂肪細胞 mitochondria 内膜の H⁺コンダクタンスと脂肪酸との関係.

A-(a) : 脂質 2 分子層に溶け込んだ脂肪酸陰イオンが flip-flop を繰り返し, H⁺を外膜側から matrix 側へ運ぶ.

A-(b) : UCP1 の中に H⁺チャンネルが形成されており, H⁺はこのチャンネルを通して外膜側から matrix に流れ込む. Purine nucleotide は UCP1 に結合し, チャンネル活性を抑制する. また脂肪酸は UCP1 に働き purine nucleotide による抑制を解除するように働くとする.

B : UCP1 内に 1 価の脂肪酸陰イオンに対して高い透過性を持つ陰イオンチャンネルがある. 溶液中の脂肪酸には解離しているものと電気的に中性である解離していないものがある. 電気的に中性の脂肪酸が脂質 2 分子層に溶け込み膜内を濃度勾配にしたがって matrix 側まで拡散し, ここでその幾つかが解離し, H⁺と脂肪酸陰イオンが生じる. 脂肪酸陰イオンは matrix から UCP1 を通り外膜へ出る. Matrix は外液に対して少なくとも 80mV ほど負であるので, 脂肪酸陰イオンは殆ど完全に外液に出る. 残った H⁺は電子伝達系に流れ込む. 外液に出た脂肪酸陰イオンは再びそこで H⁺と結合し, 電気的に中性の形になり, 脂質 2 分子膜を貫いて matrix まで拡散し, そこで解離する. 全体として脂肪酸陰イオンが外液—matrix 間を循環して H⁺を外液から matrix に運ぶ. 脂質 2 分子層の部分は UCP1 が占める面積に比して遙に広いので, この回路全体の律速段階は UCP1 を脂肪酸陰イオンが通り抜けるところにある. したがって, purine nucleotide がこの陰イオンチャンネル活性を抑制すれば, H⁺流入は抑制されることになる.

いる.

UCP に関する研究のごく初期から寒冷馴化したハムスター褐色脂肪細胞 mitochondria を KCl 溶液あるいは KBr 溶液に浮遊させ, これに valinomycin を加えると, mitochondria が膨化すること, および GDP が膨化を抑制することは知られていた (Nicholls & Lindberg, 1973). この実験結果は K⁺流入と共に陰イオンである Cl⁻あるいは Br⁻が流入することを意味するものであり, UCP が埋め込まれている内膜に陰イオン透過能が内在していることを示唆するものである.

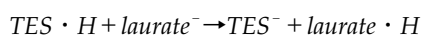
褐色脂肪細胞 mitochondria における脂肪酸の H⁺コンダクタンス上昇作用の機構を考える上で重要な所見が Jezek らによって得られた. 彼らは UCP をリボゾームに再構成し, リボゾームに蛍光陰イオン指示薬である SPQ (6-methoxy-N-(3-sulfopropyl) quinolinium) を閉じ込め, リボゾーム外にのみ K⁺が存在する条件下で valinomycin を浮遊液に加えることによって起こる蛍光強度の変化から Cl⁻, Br⁻, I⁻のそれぞれについてフラックスを測定し, これらハロゲン陰イオンの流入が GDP によって完全に抑制されること, および UCP がなければこれら陰イオンの移動がないことを明らかにした (Jezek, Orosz, & Garlid, 1990). (注: リボゾーム内に K⁺がなく, リボゾーム外にのみ K⁺が存在すると, valinomycin を与えることにより K⁺が流入し, リボゾーム内の電位が正方向に変化し, この電位差が陰イオンをリボゾーム内に引き込むように働く. UCP に陰イオンチャンネルが形成されていれば, 陰イオンはここを通過してリボゾーム内に流れ込み, 結果としてリボゾーム内の K⁺および陰イオンの濃度が上昇する. リボゾーム内のイオン濃度の上昇はリボゾームの膨化をもたらすので, 最終的にはリボゾーム内イオン濃度はリボゾーム外イオン濃度と等しくなる.) 引き続き, やはり valinomycin 法を用いて UCP を再構成したリボゾーム浮遊液について陰イオンである alkylsulfonate, alkylsulfate, benzosulfonate, oxo-halogenides, hypophosphate, pyruvate のフラックスを測定し, 従来考えられていたものより遙に広い範囲の陰イオンが UCP を通って移動するこ

とを確かめ、UCP を通りうるイオンの要件は、(1) 1 価の陰イオンであること、(2) alkyl 鎖あるいは aryl 鎖に極性基がついていないもの、であることを挙げている。また、疎水性の増加と共にフラックスは増加することを明らかにしている (Jezek & Garlid, 1990)。なお、これらの陰イオンのフラックスは Cl^- と競合する。

1996 年に至り、 K^+ 濃度感受性蛍光色素である PBF1 (potassium-binding benzofran isophthalate) をリボゾームに閉じ込め、リボゾーム外にのみ K^+ が存在する条件下で valinomycin により誘発される蛍光強度変化の時間経過からリボゾーム内の K^+ 濃度の変化 (リボゾーム内の陰イオン総濃度の変化を反映する) を調べ、脂肪酸である laurate⁻ (C_{12}) を浮遊液に加えた場合もその誘導体である undecanesulfonate⁻ を加えた場合も valinomycin によって誘発されたリボゾーム内 K^+ 濃度変化の大きさに相違がないことを認め、この所見から laureate⁻ も undecanesulfonate⁻ もほぼ同じ程度に UCP を通過すると結論している (Garlid, Orosz, Modriansky, Vassanelli & Jezek, 1996)。さらに、pH 緩衝剤である TES \cdot H (N-tris(hydroxymethyl)methyl-2-aminoethanesulfonic acid) の陰イオン型である TES⁻ が Cl^- と同様に SPQ の蛍光を quench する性質を有することを利用し、SPQ を閉じ込めたリボゾームについてリボゾーム内外に TES \cdot H/TES⁻ が存在する条件下で、valinomycin によって誘発される SPQ 蛍光強度を測定し、その変化からリボゾーム内の H^+ 濃度変化を調べようと試みている。この実験において、リボゾーム外液に laurate⁻ を加えた場合には valinomycin によって誘発される SPQ 蛍光の quenching は時間と共に増大するが、浮遊液に undecanesulfonate⁻ を加えた場合には valinomycin によって誘発される蛍光変化は時間的に変化しない。なお、valinomycin 投与後の SPQ 蛍光変化は GDP によって抑制される。以上の実験結果は次のように解釈されている。

リボゾーム浮遊液に lauric 酸を加えると、電気的に中性である lauric 酸はリボゾーム膜を貫いてリボゾーム内まで拡散し、リボゾーム内の lauric

酸の濃度はリボゾーム外液中の濃度とほぼ等しくなる。Valinomycin を投与すると、 K^+ の流入と共に陰イオン型である laurate⁻ が UCP を通ってリボゾーム内に流入し、リボゾーム内 laurate⁻ の濃度が上昇する。laurate⁻ はリボゾーム内の H^+ と結合して電気的に中性である lauric 酸の濃度が上昇し、これが濃度勾配にしたがってリボゾーム内から外液へ出て行き、全体として H^+ が UCP 再構成リボゾーム内から浮遊液へ出て行くことになる。その結果、リボゾーム内 H^+ 濃度は低下し、この H^+ 濃度の低下が TES⁻ の濃度上昇を来し、SPQ quenching の増大として観察される。



一方、undecanesulfonic 酸は lauric 酸より強い酸であるので、pH7 付近では undecanesulfonic 酸の大部分は解離している。Valinomycin 投与後、この酸の陰イオン型である undecanesulfonate⁻ が UCP を通ってのリボゾーム内に流入しても、それがリボゾーム内において H^+ と結合して電気的に中性の undecanesulfonic 酸となって脂質 2 分子層部分を貫き外液へ拡散していくことはない。したがって、リボゾーム内 H^+ 濃度が変化することはない、というものである。

この実験結果は確かに電気的に中性である形の脂肪酸が濃度勾配にしたがって膜を貫いて拡散する領域と陰イオンチャネルが並存していれば、この系が全体として H^+ を運ぶことを強く示唆するものである。しかしこれが直接的な証明でないことから、 H^+ の移動を直接測定したいとの願望は消え去ることはなかった。

上記の報告があった同じ年、UCP1 を再構成したリボゾームに dehydration/rehydration 処理を加えて巨大リボゾームを作成し、これにパッチクランプを行い、単一チャネル電流を記録した結果が報告されている (Huang, & Klingenberg, 1996)。巨大リボゾーム膜の UCP1 は Cl^- チャネルの性質を示し、通常のイオンチャネルと同様に on-off をくりかえす。このチャネル活性は purinenucleotide によって抑制されるが、脂肪酸は何の影響も与えない。単一チャネルコンダクタンスの値は 75 pS (対称的 100mM KCl) である。この値は mito-

chondriaについて膨化実験および蛍光色素を用いる実験から得られた推定値の約 10^6 倍である。UCP 巨大リポゾームを作成するために dehydration/rehydration 処理を繰り返している間に膜に埋め込まれている UCP 分子の立体構造が多少変化したのであろう。しかし、陽イオンチャンネルが陰イオンチャンネルに変化するような劇的な変化はありそうもない。

UCP が埋め込まれている脂質 2 分子膜が全体として H^+ を通すかどうかということについて、脂質 2 分子膜に UCP1 を再構成した平面膜を用いて、直接 H^+ 膜電流を測定しようとの試みがなされている (Urbánková, et al., 2003)。脂質 2 分子膜の両側に対称的に 50mM K_2SO_4 , 20mM Tris, 20 mM HEPES, 0.6mM EGTA, pH7.7 の組成を持つ溶液をおく。この溶液中の陰イオンは UCP を殆ど通過し得ないものである。UCP を埋め込んでいない膜の両側の溶液に電位差をかけても、電流は殆ど流れない。UCP1 を埋め込んだ膜においても膜のコンダクタンスはほぼ 0 である。ところが、膜の両側の溶液に脂肪酸 (oleic 酸あるいは stearic 酸) を加えると、膜は電流を通すようになる。この電流は 1.9mM ATP によって約 80% 抑制される。両溶液間に H^+ 濃度差を作ると、I-V 曲線は H^+ 平衡電位 E_H が移動した方向へほぼ平行に移動する。彼らは I-V 曲線が E_H の移動方向へ移動したことから、この電流は H^+ 電流であるとしている。

この場合、mitochondria 浮遊液あるいはリポゾームを用いる実験条件とは全く異なることに注意しなければならない。Mitochondria あるいはリポゾームにイオンが流れ込むとその小粒子内のイオン濃度は変化する。しかし、平面膜を用いる実験では、イオンが一方の溶液から他方の溶液に膜を貫いて流れ込んでも、溶液中のイオン濃度は変化しない。 H^+ 濃度に差がなければ、電気的に中性の形になっている脂肪酸の濃度にも差は生じない。すなわち、膜の中に電気的中性である脂肪酸の濃度勾配は存在しない。また電位差は電荷を持たない脂肪酸を動かす駆動力とはなり得ない。このことを考慮に入れて膜の両側の溶液間に H^+ 濃度差を与えたときに見られた I-H 曲線の移動を考

えてみることにしよう。

解離していない形と解離している形の脂肪酸の濃度の和を $[FA]_{total}$ と書き表すことにする。脂肪酸陰イオン FA^- と H^+ 濃度との関係は次の式で表される。

$$[FA^-] = \frac{[FA]_{total}}{1 + \frac{[H^+]}{K_a}} \quad (4)$$

K_a は脂肪酸 FA の酸としての解離定数である。

1 価の脂肪酸陰イオンの平衡電位 E_{FA} は次のように表される。

$$E_{FA} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[FA^-]_{in}}{[FA^-]_{out}} \quad (5)$$

細胞あるいは mitochondria の膜電位との比較を容易にするために、対照電極が浸っている溶液を *out* (あるいは 1) とし、検出電極が浸っている溶液を *in* (あるいは 2) と書くことにする。それぞれの溶液について FA^- の濃度を示す式をたて、それを式 (5) に代入すると次の式がえられる。

$$E_{FA} = \frac{RT}{F} \ln \frac{K_a + [H^+]_{out}}{K_a + [H^+]_{in}} \quad (6)$$

上式は脂肪酸陰イオンの平衡電位は E_H の変化の方向と同じ方向に変化することを示している。 E_{FA} は K_a の値が小さくなるにしたがって E_H に近づく。もし UCP 再構成平面膜を貫く電流が脂肪酸陰イオンにより運ばれた電流であるならば、両液間の pH 差が 0 であるとき、I-V 曲線は原点を通る。 K_a の値が H^+ 濃度に較べて同じ程度かあるいはそれより小さいと、膜が H^+ を全く通さなくても、あたかも H^+ 電流が流れているかのように I-V 曲線は E_H に近いところで $I=0$ である横軸を横切る曲線となる。すなわちこの系では見かけ上 H^+ 電流が流れることになり、曲線がこのように溶液間の H^+ 濃度差にしたがって移動するという事は決してこの膜が H^+ を通すという根拠にはならない。彼らのデータから K_a の値を計算すると、約 $1 \times 10^{-8} M$ となる。また、膜のコンダクタンスと膜に埋め込まれている UCP 分子の数から 1 つの UCP

当たりの移動電荷数は 14/sec と計算される。この値は蛍光色素を用いて推定した脂肪酸陰イオンの移動数とほぼ一致する。

Mitochondria においては、陰イオンに働く駆動力は常に外向きであり、したがって脂肪酸陰イオンは常に matrix から細胞質に流出している。matrix における脂肪酸陰イオン濃度は低く、電気的中性の脂肪酸濃度は低く保たれている。現在のところ、脂肪酸による褐色脂肪細胞 mitochondria 内膜の H⁺コンダクタンス上昇の機構に関しては、必ずしも完全に意見が一致しているとはいえないが、細胞質における中性脂肪の加水分解の亢進が細胞質脂肪酸濃度の上昇をもたらす、細胞質における脂肪酸濃度の上昇が電気的中性物質である脂肪酸の拡散の増加をもたらす、matrix に拡散してきた脂肪酸が解離して生じた H⁺と脂肪酸陰イオンのうち脂肪酸陰イオンは UCP を通って細胞質側へ流れ出ることが全体として H⁺の流入増加という現象をもたらす、と考えるのが最も論理的である。なお、UCP1 を埋め込んだ脂質平面膜の電流-電圧曲線は sinh 型である。これは UCP1 内の陰イオンチャネルにおいて膜・溶液間の外側界面と内側界面との間に 1 つの拡散障壁（山）しか存在しないことを暗示している。（注：第 8 回イオンチャネルの構造と電流-電圧曲線を参照していただきたい）。

寒冷に対する早期の発熱反応は褐色脂肪組織を支配している交感神経を介する反応であり、交感神経終末から放出される noradrenaline が褐色脂肪細胞に熱発生を指令する情報を伝える伝達物質である。noradrenaline は β_3 受容体を介して adenylylcyclase を活性化し、cAMP レベルの上昇を介してホルモン感受性 lipase を活性化し、細胞内脂肪顆粒の脂肪が加水分解を起こす。細胞質内の自由脂肪酸レベルの上昇が mitochondria 内膜の H⁺コンダクタンスを引き起こし、電子伝達系を流れる電流の増大を来し、その結果、NADH₂⁺と酸素が消費され、解糖が亢進する。これが寒冷曝露後の比較的短時間におこる熱産生反応である。

b) 内膜における UCP 密度の制御

褐色脂肪細胞の数および褐色脂肪細胞内の mi-

tochondria の数は飼育室の温度が低くなると増加する。飼育室の温度が低いと、褐色脂肪細胞内の UcpmRNA の数が増加し、mitochondria の UCP1 の密度も増加する (Bouilaud, et al., 1984)。

褐色脂肪細胞 mitochondria の数は交感神経終末から放出される noradrenaline によって支配されている。また更にこの交感神経の作用は甲状腺 hormone によって促進される (Bianco, et al., 1988; Guerra, et al., 1996)。また UCP1 の転写は leptin (Commins, et al., 2000) および retinoic acid の影響も受ける (Alvarez, et al., 1995)。これらの制御系を模式的に図 3 に示す。この制御系に興味をもたれる方はその分野の review を参照していただきたい。

4. UCP-1 以外の UCPs

UCP の発見以後、これと同族の膜蛋白が次々と発見され、UCP2, UCP3, UCP4 と名付けられ、最初に発見されて褐色脂肪細胞 mitochondria の UCP は今では UCP1 と呼ばれている。これらの UCPs は肥満の予防から注目されていたが、今のところ肥満発症とのあいだに密接な関係は認められていない。この他、活性酸素 (reactive oxygen species) および食細胞の活性化との関係も注目されている (Cannon et al., 2006)。また、糖尿病における腎症の発症との関係も注目されている (Friederich, et al., 2008)。UCPs の系統樹および UCP2, UCP3, UCP4 の機能に関しては Ledesma et al. (2002) の総説に詳しい。

植物にも UCP 近縁の膜蛋白 (plant-uncoupling mitochondrial protein, PUMP) が見つかった。生物の進化の面から興味深いことである。植物 UCP はトウモロコシからニンジンにいたる全ての高等植物に認められるが、きのこには存在しない (Jezek et al., 2000)。シダの類や爬虫類である恐竜に UCP があったか知りたいものである。

シリーズを終わるにあたって

今回でこの「生理学ものがたり」が終わることになる。この間、編集委員長はじめ編集委員の方々に大変お世話になったことに対して厚く感謝した

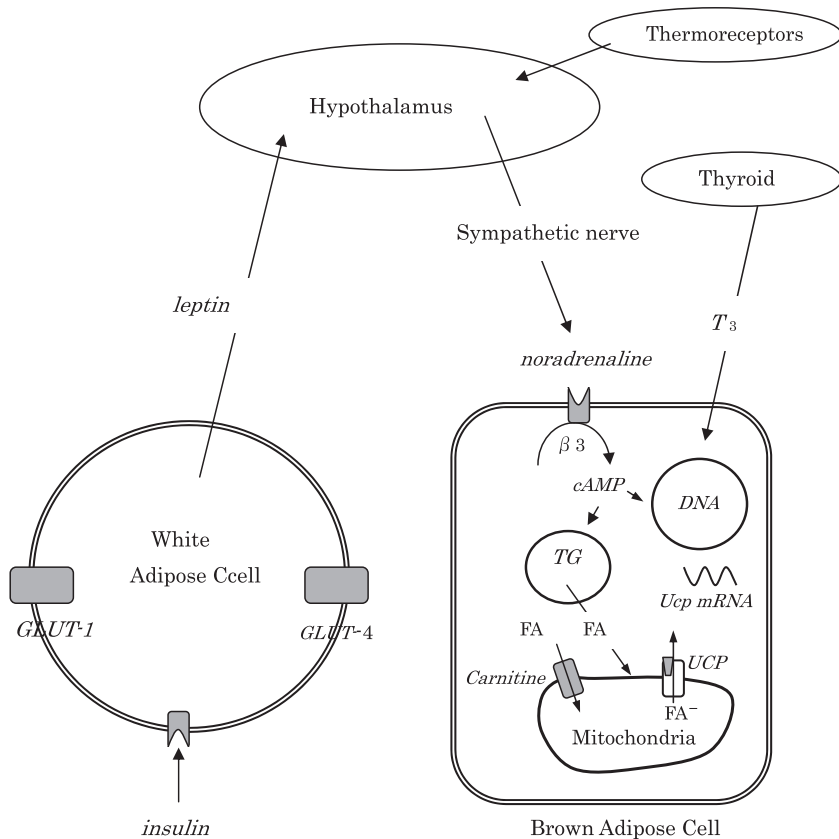


図3 褐色脂肪組織における熱発生制御に関与する組織。

主な細胞外情報経路は視床下部自律神経中枢から交感神経をへて褐色脂肪組織にいたる経路である。β₃受容体を介する褐色脂肪細胞内 cAMP レベルの上昇は hormone-sensitive lipase の活性化を来すとともに、Ucp-mRNA の増加をもたらし、mitochondria 内膜上の UCP 密度の上昇をきたす。

い。当初このシリーズについてお話があったとき、「フム、フム。そうか」というように読んで直ぐに分かるようなものを書くようにとのことであったが、その要請に充分応えることが出来たか、甚だ心許ない。これは科学というものが必ずしも直感的に理解され易いものではないことの他に、わたし自身が、執拗に考えることこそ肝心、という信念を持っていることにもよるのであろう。疑い深く、容易に人の考えを受け入れない傾向は、終戦時に多感な時期を過ごした世代の特徴かも知れない。しかし、これこそ科学の分野に身をおくものとするべき態度であらう。

近代科学の歴史を眺めると、中世の学問に反撥

して実用的な技術を作り上げて行きたいという願望と物事の本質を知りたいという願望、この2つの気持ちが科学の根底を形作っていったように思える。科学には“役に立たないもの”に対する反撥がある。科学の根底に非合理的なことに対する反撥がある以上、科学における仕事は“有益”かどうかという観点から評価されることを拒否することは出来ない。問題は評価の尺度である。このシリーズの終りになって政権が変わった。前政権下、特に小泉内閣によって構造改革が唱えられた頃から、科学の成果を経済的観点からのみ評価する風潮が高まり、これに違和感を抱いていたが、政権が変わった今でも科学上の業績に関する評価

が経済的観点から為される点において変わりはないように見える。ところで、科学は、上に述べたように、“役に立たないもの”に対する反撥のほかには物事の本質を知りたいという願望にも基づいている。物事の本質を知る作業は一見“役に立つ”ことと無関係のように見える。これは精神の享楽に関係したことである。たとえば、優れた音楽や美術は人の心に深い安らぎと満足感あるいは勇気を与えてくれる。しかしこれを“役に立たない”と言ってしまえばそれまでである。精神の享楽に関するものを“役に立たない”といって斬捨ててしまえば、精神の荒廃を来し、文化が衰微するように科学も衰えるであろう。また、物事の本質に関する知識の世界が広がらないところに、真の技術革新はない。このことは科学の“経済的有益性”を重視する人々にとって大きな問題であるはずである。政策責任者には国の将来を考える義務がある。科学に従事するものの意欲を萎えさせない為に、大学運営経費の維持に努めることがその責務であろう。

今回、体熱発生を目的とした組織である褐色脂肪組織が温血動物にのみ発達していることを述べたが、温血動物の体温が冷血動物より高いのは、温血動物にのみ褐色脂肪組織が発達していることに由来するのではない。体温が高いのは神経組織のenergy消費が大きいことによるのである。神経組織の発達には神経組織における酸素消費を増加させるばかりでなく、その重量を支える筋組織を発達させ、神経および筋に酸素を供給する循環系をも発達させる。その結果、これらの組織における発熱量が増加する。あらゆる精神活動は神経系の活動に基づく。物事の本質を知りたいという精神活動もここに在る。精神活動が活発であることが人間を特徴づける。精神の活動を物事の本質を見極める仕事についやして欲しい。物事の本質を見極めるには、物理および化学のゆるぎない知識と勇猛果敢な精神力が必要である。私はかつて植物細胞膜にH⁺-pumpが存在することを報告したが(Kitasato, 1968), H⁺のフラックスを測定することの困難さを前にして不覚にも立ち止まり、たじろいでしまった。この轍を踏んではならない。

科学の世界においては、先ず原因物質の発見に努力が注がれる。しかし原因物質と思われるものが見つかってそれで全てが終わったのではない。その原因物質が如何にしてその物質に起因する現象を引き起こすかを解明しなければならない。その例をUncoupling Protein (UCP)に関する研究の進展に見ることができるであろう。生命現象が生起する機構を解明する分野が生理学の領域である。機構の解明なくして次の発展はない。機序を知ることはその入り口に立つことにしすぎない。このことを他の分野の人々にも理解してもらえるように自らの分野を輝かせ、出来ることなら、世界の生理学の本をその方向に書き直して頂きたい。生理学の独自性を確立することが生理学発展の道筋であり、ひいては医学の深化の道筋である。

長い間、このOpinion欄に辛抱強く付き合っていたいただいた読者の方々に深い感謝の念をもってこの稿を終ることにする。

文献の複写に多大の協力を頂いた滋賀医大・生理学講座細胞機能生理学の松浦博教授はじめ教員の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

1. Alvarez R, de Andrés J, Yubero P, Viñas O, Mampel T, Iglesias R, Giral M & Villarroya F: A novel regulatory pathway of brown fat thermogenesis. Retinoic acid is a transcriptional activator of the mitochondrial uncoupling protein gene. *J Biol Chem* **270**: 5666-5673, 1995
2. Aquila H, Link TL & Klingenberg M: The uncoupling protein from brown fat mitochondria is related to the mitochondrial ADP/ATP carrier. Analysis of sequence homologies and of folding of the protein in the membrane. *EMBO J* **4**: 2369-2376, 1985
3. Aquila H, Misra D, Eulitz M & Klingenberg M: Complete amino acid sequence of the ADP/ATP carrier from beef heart mitochondria. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* **363**: 345-349, 1982
4. Bianco AC, Sheng X & Silva JE: Triiodothyronine amplifies norepinephrine stimulation of uncoupling protein gene transcription by a mechanism not requiring protein synthesis. *J Biol Chem* **263**: 18168-18175, 1988
5. Bouillaud F, Ricquier D, Mory G & Thibault J: Increased mRNA for the uncoupling protein in brown

- adipose tissue of rats during thermogenesis induced by cold exposure or norepinephrine infusion. *J Biol Chem* **259**: 11583–11586, 1984
6. Bouillaud F, Weissennbach J & Ricquier D: Complete cDNA-derived amino acid sequence of rat brown fat uncoupling protein. *J Biol Chem* **261**: 1487–1490, 1986
 7. Cameron IL & Smith RE: Cytological responses of brown fat tissue in cold-exposed rats. *J Cell Biol* **23**: 89–100, 1964
 8. Cannon B, Shabalina IG, Kramarova TV, Petrovic N & Nedergaard J: Uncoupling proteins: a role in protection against reactive oxygen species— or not? *Biochim Biophys Acta* **1757**: 449–458, 2006
 9. Commins SP, Watson PM, Levin N, Beiler RJ & Gettys TW: Central leptin regulates the UCP1 and ob genes in brown and white adipose tissue via different beta-adrenoceptor subtypes. *J Biol Chem* **275**: 33059–33067, 2000
 10. Eiermann W, Aquila H & Klingenberg M: Immunological characterization of the ADP, ATP translocator protein isolated from mitochondria of liver, heart and other organs. Evidence for an organ specificity. *FEBS Lett* **74**: 209–214, 1977
 11. Friederich M, Fasching A, Hansell P, Norquist L & Palm F: Diabetes-induced up-regulation of uncoupling protein-2 results in increased mitochondrial uncoupling in kidney proximal tubular cells. *Biochim Biophys Acta* **1777**: 935–940, 2008
 12. Garlid KD, Orosz DE, Modriansky M, Vassanelli S & Jezek P: On the mechanism of fatty acid-induced proton transport by mitochondrial uncoupling protein. *J Biol Chem* **271**: 2615–2620, 1996
 13. Guerra C, Roncero C, Porras A, Fernández M & Benito M: Triiodothyronine induces the transcription of the uncoupling protein gene and stabilizes its mRNA in fetal rat brown adipocyte primary cultures. *J Biol Chem* **271**: 2076–2081, 1996
 14. Guillory RJ & Racker E: Oxidative phosphorylation in brown adipose mitochondria. *Biochim Biophys Acta* **153**: 490–493, 1968
 15. Heaton GM, Wagenvoerd RJ, Kemp A Jr & Nicholls DG: Brown adipose tissue mitochondria: photoaffinity labeling of the regulatory site of energy dissipation. *Eur J Biochem* **82**: 515–521, 1978
 16. Horwits BA, Horowitz JM Jr & Smith RE: Norepinephrine-induced depolarization of brown fat cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **64**: 113–120, 1969
 17. Huang S-G & Klingenberg M: Chloride channel properties of the uncoupling protein from brown adipose tissue mitochondria: A patch-clamp study. *Biochemistry* **35**: 16806–16814, 1996
 18. Jezek P, Orosz DE & Garlid KD: Reconstitution of the uncoupling protein of brown adipose tissue. *J Biol Chem* **265**: 19296–19302, 1990a
 19. Jezek P & Garlid KD: New substrates and competitive inhibitors of the Cl⁻ translocating pathway of the uncoupling protein of brown adipose tissue mitochondria. *J Biol Chem* **256**: 19303–19311, 1990b
 20. Jezek P, Zackova M, Kosarova J, Rodrigues ET, Madeira VM & Vincente JA: Occurrence of plant-uncoupling mitochondrial protein (PUMP) in diverse organs and tissues of several plants. *J Bioenerg Biomembr* **32**: 549–561, 2000
 21. Kitasato K: The influence of H⁺ on the membrane potential and ion fluxes of Nitella. *J Gen Physiol* **52**: 60–87, 1968
 22. Ledesma A, deLacoba MG & Rial E: The mitochondrial uncoupling proteins. *Genome Biol* **3**: revies 3015.1–3015.9, 2002
 23. Lehninger AL: *Bioenergetics*, Benjamin, Menlo Park, California, 1973
 24. Lepkovsky S, Wang W, Koike T & Dimick MK: The oxygen uptake by particulate suspensions (mitochondria) from liver, brown and white fatty tissues. *Fed Proc* **18**: 272, 1959
 25. Locke RM, Rial E, Scott ID & Nicholls: Fatty acids as acute regulators of the proton conductance of hamster brown fat mitochondria. *Eur J Biochem* **129**: 373–380, 1982
 26. Locke RM, Rial E & Nicholls DG: The acute regulation of mitochondrial proton conductance in mitochondria from the brown fat of cold-adapted and warm-adapted guinea-pig. *Eur J Biochem* **129**: 381–387, 1982
 27. Matthias A, Ohlson KB, Fredriksson JM, Nedergaard J & Cannon B: Thermogenic responses in brown fat cells are fully UCP1-dependent. UCP2 or UCP3 do not substitute for UCP1 in adrenergic or fatty acid-induced thermogenesis. *J Biol Chem* **275**: 25073–25081, 2000
 28. Mitchell P & Moyl J: Chemiosmotic hypothesis of oxidative phosphorylation. *Nature* **213** (5072): 137–139, 1967
 29. Nicholls DG & Lindberg O: Brown adipose tissue mitochondria: The influence of albumin and nucleotides on passive ion permeability. *Eur J Biochem* **37**: 523–530, 1973
 30. Nicholls DG: Hamster brown adipose tissue mitochondria: the chloride permeability of the inner membrane under respiring conditions, the influence of purin nucleotides. *Eur J Biochem* **49**: 585–593, 1974
 31. Nicholls DG: Hamster brown-adipose-tissue mitochondria. The control of respiration and the proton electrochemical potential gradient by possible physiological effectors of the proton conductance of the inner mem-

- brane. *Eur J Biochem* **49**: 573–583, 1974
32. Nicholls DG: The influence of respiration and ATP hydrolysis on the proton-electrochemical gradient across the inner membrane of rat-liver mitochondria as determined by ion distribution. *Eur J Biochem* **50**: 305–315, 1974
 33. Nicholls DG, Bermson VS & Heaton GM: The identification of the component in the inner membrane of brown adipose tissue mitochondria responsible for regulating energy dissipation. *Experientia Suppl* **32**: 89–93, 1978
 34. Rafael J, Ludolph H-J & Hohorst H-J: Mitochondria from brown adipose tissue: uncoupling of oxidative phosphorylation by long chain fatty acid and recoupling by guanosinetriphosphate. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* **350**: 1121–1131, 1969
 35. Riccio P, Aquila H & Klingenberg M: Purification of the carboxy-atractylate binding protein from mitochondria. *FEBS Lett* **56**: 133–138, 1975
 36. Sklachev VP: Fatty acid circuit as a physiological uncoupling of oxidative phosphorylation. *FEBS Lett* **294**: 158–162, 1991
 37. Smith RE: Thermogenic activity of the hibernating gland in the cold-acclimated rat. *Physiologist* **4**: 113, 1961
 38. Smith RE: Thermogenesis and thyroid action. *Nature* **204**: 1311–1312, 1962
 39. Smith RE & Roberts JC: Thermogenesis of brown adipose tissue in cold-acclimated rats. *Am J Physiol* **206**: 143–148, 1964
 40. Smith RE, Roberts JC & Hittelman KJ: Nonphosphorylating respiration of mitochondria from brown adipose tissue of rats. *Science* **154**: 653–654, 1966
 41. Urbankova E, Voltchenko A, Pohl P, Jezek P & Pohl EE: Transport kinetics of coupling proteins. Analysis of UCP1 reconstituted in planar lipid bilayers. *J Biol Chem* **278**: 32497–32500, 2003