

## 9 8 4 5 亜鉛欠乏時の食塩嗜好の増大に関する生理学的研究

助成研究者：駒井 三千夫 (東北大学大学院 農学研究科)

共同研究者：後藤 知子 (東北大学大学院 農学研究科)

古川 勇次 (東北大学大学院 農学研究科)

これまで、亜鉛欠乏が味覚に及ぼす影響について検討するため、亜鉛欠乏ラットの各種の味溶液の選択嗜好率を観察することによって味覚異常についてモニターしたところ、4週間飼育後の重症な亜鉛欠乏時にはほとんどすべての味溶液の識別が悪くなっていることを観察した。また、塩酸キニーネのような忌避的な苦味物質の場合は、欠乏食の飼育後2週間～3週間程度経過しないと識別異常が出ないのに対して、食塩嗜好は飼育開始3日目くらいですでに明確に出現することがわかり、しかも完全には欠乏していない低亜鉛食によっても食塩嗜好はやはり3日目で大幅に上昇することがわかった。このことは、体内の亜鉛保持量がまだ大きな影響を受けるところまでいかないうちに亜鉛欠乏食を摂取するだけで急激に食塩摂取量が増えたことを意味している。今回の研究は、こうした亜鉛欠乏食摂取による急激な食塩嗜好の増大の機構を探ることを目的として行われた。

4週齢のSD系雄ラットを用いて、亜鉛添加食、低亜鉛食、亜鉛欠乏食および亜鉛欠乏群に対するペアフェッド対照群を設けて、摂水量と食塩溶液ならびに塩酸キニーネ溶液の選択摂取量、尿中へのナトリウム排泄率等の経日的推移を観察した。また、飼育開始時と開始後4日目および42日目に食塩水の刺激に対する味神経(鼓索神経)応答について検討した。

その結果、低亜鉛食または亜鉛欠乏食を与えてすぐに現れる食塩嗜好の増大は、味受容サイトの異常や食塩排泄量の増大によって起きているわけではないことが示唆された。今回の亜鉛欠乏食で食塩を多く欲するという状況は、食餌タンパク質、カルシウム、そしてリジン欠乏の場合に報告されている現象と同じような現象とみられ、こうした栄養素欠乏に共通した中枢情報処理機構が関与しているのかも知れない。今後、亜鉛が不足しているという食餌情報だけで中枢(味覚情報処理または制御)が大きく影響を受けるか、あるいは亜鉛欠乏の情報が肝臓や骨などの臓器代謝(亜鉛欠乏による体内ミネラル濃度の異常)に影響した結果生じているのか、等について解明していく必要がある。



## 9 8 4 5 亜鉛欠乏時の食塩嗜好の増大に関する生理学的研究

助成研究者：駒井 三千夫（東北大学大学院 農学研究科）

共同研究者：後藤 知子（東北大学大学院 農学研究科）

古川 勇次（東北大学大学院 農学研究科）

亜鉛は必須微量元素の一つであり、欠乏すると食欲不振、成長の遅延、皮膚炎、免疫能の低下、生殖機能の低下などのほかに、味を感じにくくなったり違った味を感じるなどの味覚異常が起こることが知られている。亜鉛欠乏と味覚に関しては、これまでも富田らによる重要な研究成果はあるものの、必ずしもその発症機構が明確になっているわけではない。

当教室では、亜鉛欠乏が味覚に及ぼす影響について検討するため、亜鉛欠乏ラットの各種の味溶液の選択嗜好率を観察することによって味覚異常についてモニターしたところ、4週間飼育後の重症な亜鉛欠乏時にはほとんどすべての味溶液の識別が悪くなっていることを観察した。また、塩酸キニーネのような忌避的な苦味物質の場合は、欠乏食の飼育後2週間～3週間程度経過しないと識別異常が出ないのに対して、食塩嗜好は飼育開始3日目ぐらいですでに明確に出現することがわかり、しかも完全には欠乏していない低亜鉛食によっても食塩嗜好はやはり3日目で大幅に上昇することがわかった。このことは、体内の亜鉛保持量がまだ大きな影響を受けるところまでいかないうちに亜鉛欠乏食を摂取するだけで急激に食塩摂取量が増えることを意味している。このことから、亜鉛が不足しているという食餌情報だけで中枢（味覚情報処理または制御）が大きく影響を受けるか、あるいは亜鉛欠乏の情報が肝臓や骨などの臓器代謝（亜鉛欠乏による体内ミネラルバランスの異常）に影響した結果生じているのか、あるいはまた、味受容サイトでの異常が急激に起きている可能性も否めない。このため今回の研究は、こうした亜鉛欠乏食摂取による急激な食塩嗜好の増大の機構を探ることを目的として行われた。

## 【方法】

## 実験動物：

実験動物としては、成長期における影響をみる目的もあり、離乳直後の4週齢のSD系雄ラットを用いた。実験群には、亜鉛欠乏食群、低亜鉛食群、亜鉛添加食群、ペアフェッド群（亜鉛欠乏食群のラットが食べた量と同じ量の亜鉛添加食を1日遅れで与えた群）の4群を設けた。亜鉛欠乏食、低亜鉛食、亜鉛添加食の亜鉛含量を測定した結果、それぞれ、2.2, 4.1, 33.7 ppmであった。1群5匹を選択実験用大型ケージで集団飼育して、毎日の摂食量、節水量、等を観察した。なお尿の採取実験については、別の動物を用いて代謝ケー

ジで個別飼育して行った。その際の飲水は、蒸留水のみを飲ませた。

味溶液の2瓶選択実験：

154 mM NaCl溶液と蒸留水の2瓶選択実験、0.01 mM 塩酸キニーネ溶液と蒸留水の2瓶選択実験を別々に行い、実験開始直後からの2種類の味溶液の選択率を調べることにより、亜鉛欠乏による味覚異常の出現の経過を調べた。毎日の味溶液の選択摂取率を観察することによって嗜好率を求めた。

鼓索神経応答の記録

各実験群の味覚神経応答は、鼓索神経応答を記録することによって取った。すなわち、ラットを保温させてネンブタールおよびウレタンの併用麻酔下に鼓索神経を露出させて切断し、その全神経束を白金電極にかけ、舌への味刺激により誘発される神経興奮を増幅させた後に、そのインパルス放電と積分応答の両方をそれぞれDATテープならびに記録紙に記録した。刺激液は、食塩溶液と塩酸キニーネ溶液とした。実験食開始時と4日後、42日後の鼓索神経応答を記録した。なお各時点において、アミロライド感受性ナトリウムチャネルの存在割合をみるための0.1 mMアミロライド溶液の舌への滴下処理によるアミロライド阻害および回復実験も行った。

## 【結果と考察】

### 1. 実験動物の食塩嗜好の増大とナトリウム排泄

#### 1.1 体重

各実験群の体重変化をFigure 1に示した。亜鉛欠乏食群とペアフェッド対照群の体重の伸びはほとんどみられなかった。よって、この2群は体重の違いによる影響を考慮せずに比較することが可能である。低亜鉛食群では、亜鉛添加食群の体重の伸びの半分程度であった。低亜鉛食群では外見の亜鉛欠乏症状は認められないが、低亜鉛食の影響を受けていることは確実である。すなわち、潜在性の亜鉛欠乏症 (marginal zinc-deficiency) に罹っているものと予測される。

#### 1.2 摂水量と食塩溶液ならびに塩酸キニーネ溶液の選択摂取量

摂水量の推移をFigure 2に、154 mM食塩水溶液の選択摂取率をFigure 3の上段に、0.01 mM塩酸キニーネ溶液の選択摂取率をその下段にそれぞれ表した。摂水量の推移をみると、実験食開始後しばらくは群間の違いは認められなかったが、長期飼育後、すなわち28日目以後で亜鉛欠乏食群のみで顕著な増大が認められた。しかし、我々のこれまでの実験と同様に、食塩摂取率は摂水量の動きとは関係なく飼育開始直後の4日目ぐらいから

顕著にみられた。このことから、亜鉛欠乏食群および低亜鉛食群でみられた食塩嗜好率の増大は摂水量の動きとは関係のない現象であることがわかった。

一方、塩酸キニーネ溶液の選択摂取率をみる、飼育開始後20日目ぐらいからその上昇が観察され、食塩の嗜好率の動きとは独立していることがわかった。これまでの富田らの研究や我々の研究で、0.01 mMの塩酸キニーネ溶液は正常ラットではその苦味を識別できる濃度であることを確認しており摂取を忌避するのであるが、味覚感受性が低下するなどの理由で識別不可能になると、どんどん摂取するようになる。塩酸キニーネ溶液の場合は、外見的にも亜鉛欠乏症状が出てくる重症な欠乏時にその嗜好率が上がる、という食塩溶液の場合との違いが明確に認められた。いずれにしても、潜在性の亜鉛欠乏のモデルとなる低亜鉛食群においても食塩嗜好の異常な上昇が認められ、外見的には異常は認められないものの味覚の異常は起きていることがはっきりと認められた。低亜鉛食群で用いたハーパーの塩混合のレベルの亜鉛含量では潜在性の欠乏を起こすレベルであることが、今回の研究によってはっきりと示された。

### 1.3 尿中へのナトリウム排泄

1日当たりに排泄された尿量についてまとめたものをFigure 4に、摂取したナトリウム量に対する尿中に排泄されたナトリウムの割合(%)をFigure 5にそれぞれ示した。その結果、尿量については亜鉛欠乏食群でのみ28日目以後で有意に増大したが、これは、先に述べた摂水量の増加と平行な動きであった。尿中へのナトリウム排泄の割合(〔尿中ナトリウム量/摂取ナトリウム量〕×100)については、飼育期間を通して群間の違いはほとんどみられなかった。とくに、食塩溶液の嗜好が急激に上昇する4日目過ぎには群間の違いは全くみられなかった。このことから、亜鉛欠乏により腎臓におけるナトリウム再吸収の不全や、ナトリウムの排泄過多(ナトリウム飢餓)があるわけではないことがわかった。重篤な亜鉛欠乏時には、尿排泄量と摂水量が増えたが、食塩摂取量が急上昇した飼育後4日目直後にはこういう現象は全く観察されなかった。すなわち、飼育初期の食塩摂取量の増大には、尿量および摂水量の増大も関係していないことがわかった。

### 2. 亜鉛欠乏ラットの鼓索神経の食塩水応答の推移

飼育開始時(実験動物は各実験群とも共通)、食塩の嗜好が上昇し始めた4日目、そして重篤な亜鉛欠乏症にある42日目に、各群のラットの食塩水または塩酸キニーネ溶液の刺激に対する鼓索神経応答を調べてみた(Figure 6)。その結果、食塩水の刺激に対する応答は、4日目では4群間の違いはみられなかったが、42日目では亜鉛欠乏食と低亜鉛食の2群で対照群よりも有意に応答が低くなっていることがわかった。塩酸キニーネ溶液に対する応答もほぼ同様であり、42日目に亜鉛欠乏食群で有意な低下が認められた。これは、以前に行った長期飼育時の実験結果と同じであった(食塩の濃度応答性の例を

Figure 7に示した)。

食塩嗜好が上昇した4日目では、食塩水の刺激に対する味神経応答はとくに変化していなかった。これは、味細胞の約10日間という再生速度を考えれば当然とも言えようが、味受容膜の変化はもう少し速く障害を受けている可能性も考えられたが、少なくとも食塩の受容機構には亜鉛欠乏食で飼育後4日目では影響が出ていないことが明らかにされた。塩酸キニーネ溶液でも同様のことが言え、受容サイトにおける味受容能は重篤な亜鉛欠乏時あるいは長期にわたる潜在性の亜鉛欠乏時においては低下しているが、短期間ではほとんど影響が認められないことがわかった。

さらに、舌表面へのアミロライド処理による食塩応答の障害の程度、すなわち各実験群のアミロライド感受性ナトリウムチャンネルの存在割合への影響についてみたところ、どの時点においても群間の違いは認められなかった。このことは、重篤な亜鉛欠乏時においてもアミロライド感受性ナトリウムチャンネルの存在割合は正常時と変わらないことを示唆している。

### 3. まとめ

以上のことから、低亜鉛食または亜鉛欠乏食を与えてすぐに現れる食塩嗜好の増大は、味受容サイトの異常や食塩排泄量の増大によって起きているわけではないことが示唆された。今回の亜鉛欠乏食で食塩を多く欲するという状況は、食餌タンパク質、カルシウム、そしてリジン欠乏の場合にみられる現象と同じような現象とみられ、こうした栄養素欠乏に共通した中枢情報処理機構が食塩嗜好に関与しているのかも知れない。今後、亜鉛が不足しているという食餌情報だけで中枢(味覚情報処理または制御)が大きく影響を受けるか、あるいは亜鉛欠乏の情報が肝臓や骨などの臓器代謝(亜鉛欠乏による体内ミネラル濃度の異常)に影響した結果生じているのか、等について解明していく必要がある。

### 【参考文献】

1. McDonnell, S.D. and Henkin, R.I.: *J. Nutr.*, **104**, 1108-1114, 1974
2. Jakinovich, W.Jr. and Osborn, D.W.: *Am. J. Physiol.*, **241**, R233-239, 1981
3. Tordoff, M.G., et al.: *Am. J. Physiol.*, **264**, R492-499, 1993
4. Okiyama, A., et al.: *Am. J. Physiol.*, **270**, R1189-1196, 1996
5. 後藤知子、駒井三千夫、鈴木 均、古川勇次: *日本味と匂学会誌*, **3**, 608-611, 1996

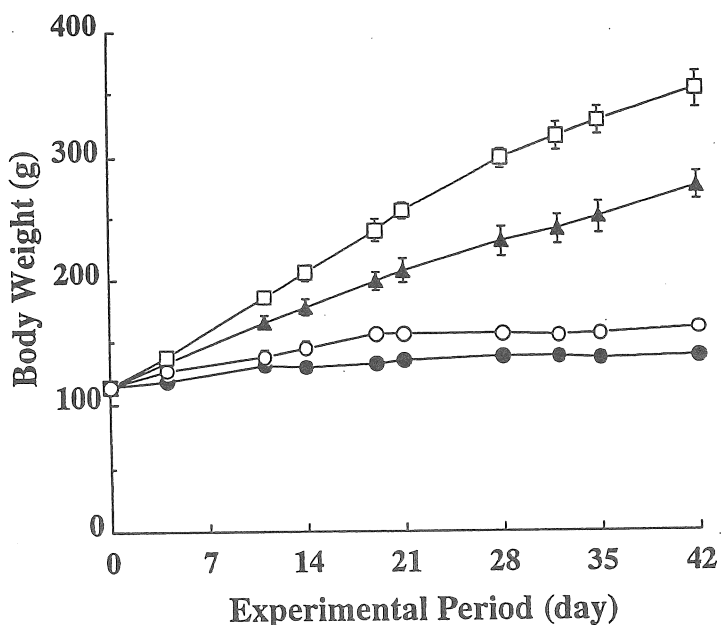
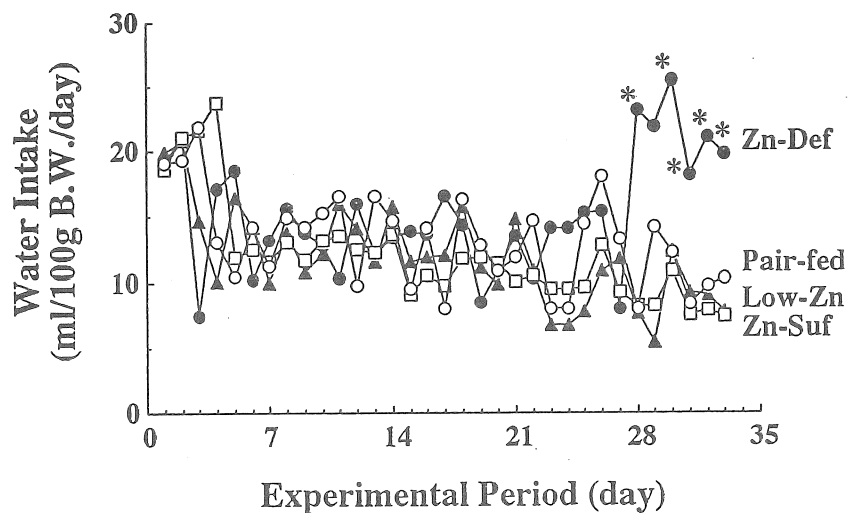


Figure 1 Body weight changes in experimental groups; Zn-Def (●, n=5), Low-Zn (▲, n=5), Zn-Suf (□, n=5) and Pair-fed (○, n=5). Values are means  $\pm$  SE.



\*  $p < 0.05$  vs. Pair-fed. (n=5)

Figure 2 Changes in daily water intake.

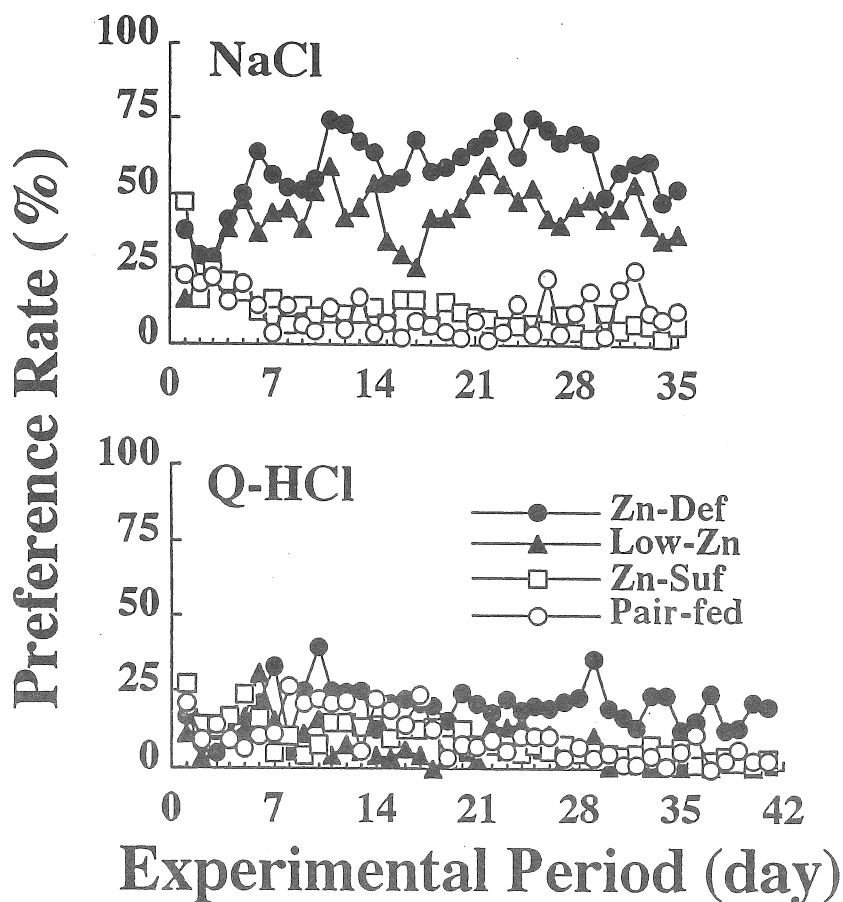
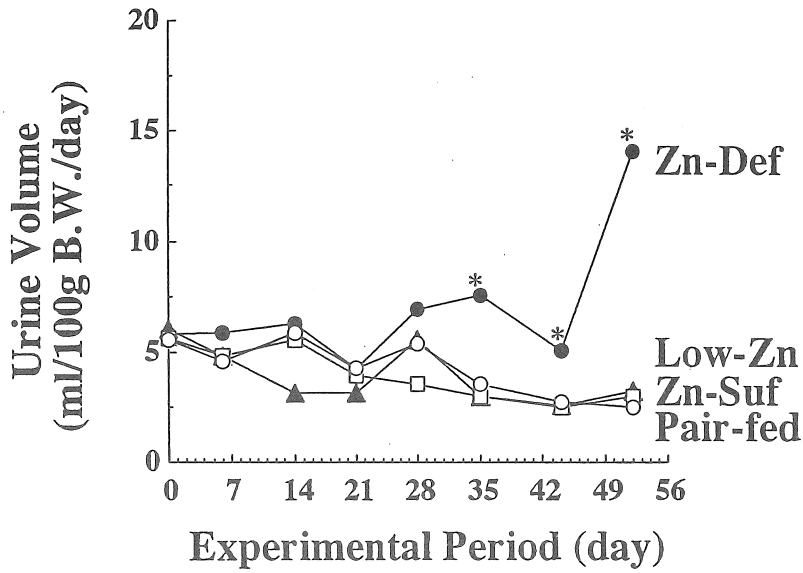


Figure 3

(n=5)

The preference for 154mM NaCl solution or 0.01mM Q-HCl solution against water.





\*  $p < 0.05$  vs. Pair-fed. (n=5)

Figure 4 Changes in daily urine volume.

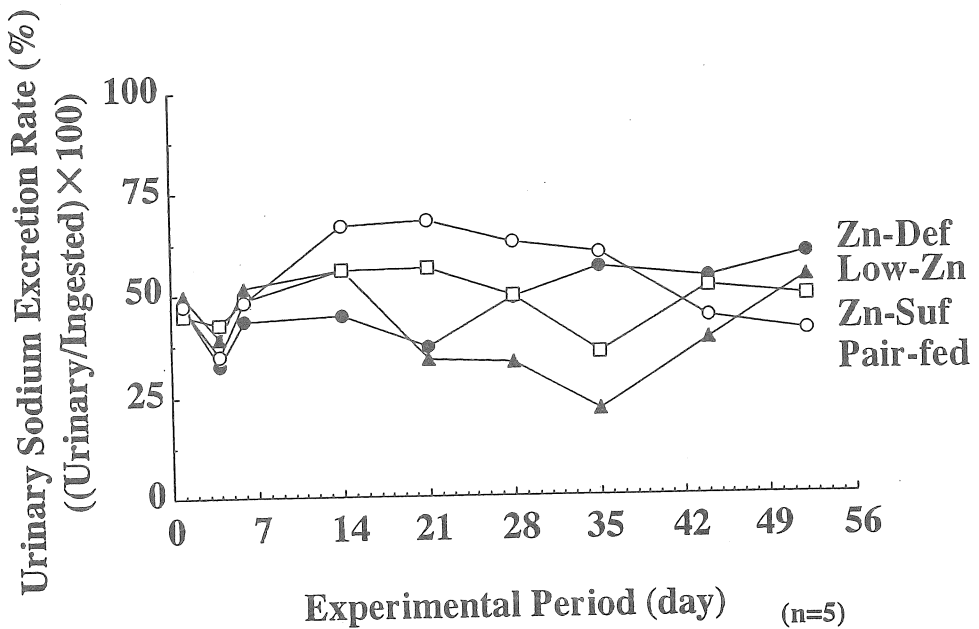


Figure 5 Changes in sodium excretion rate.

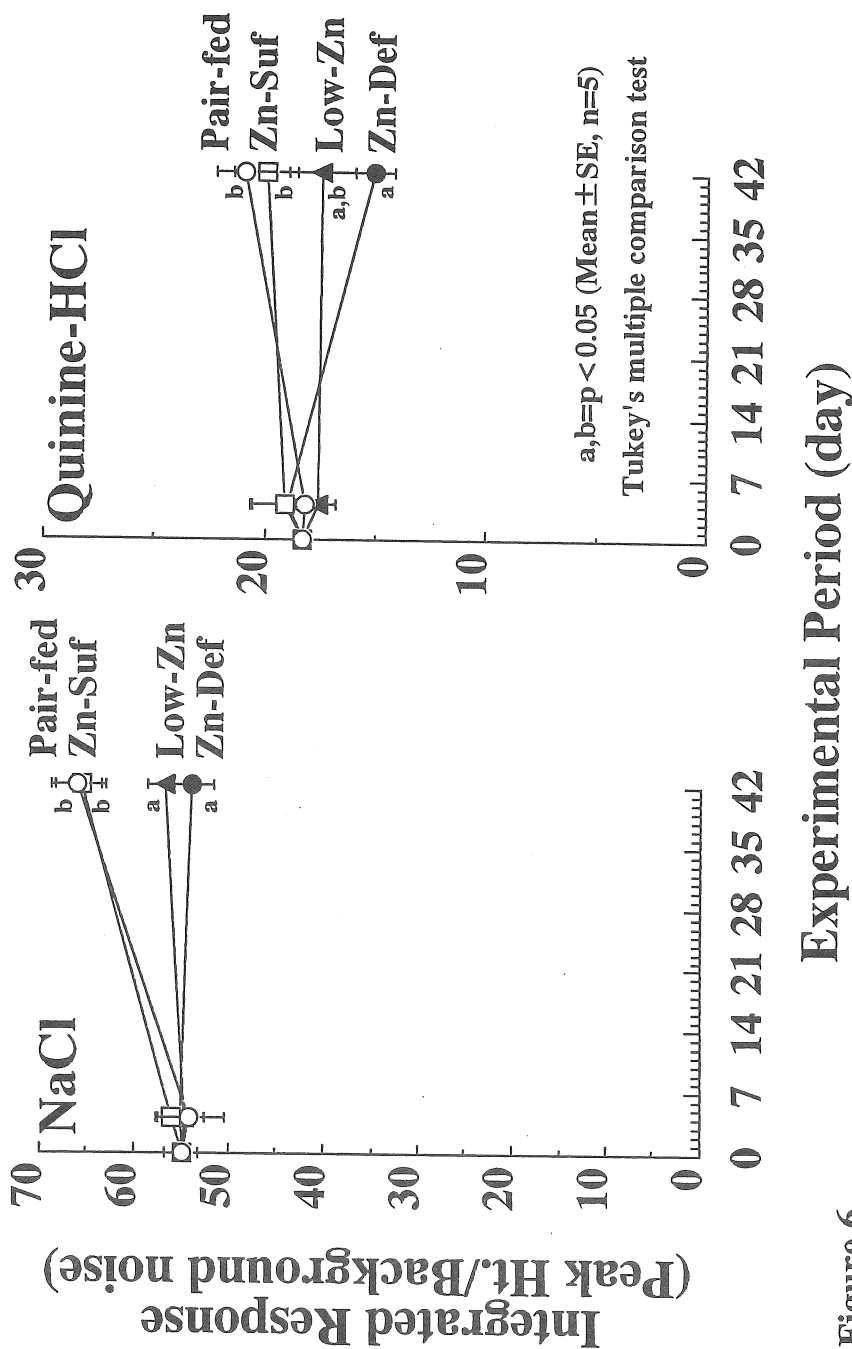
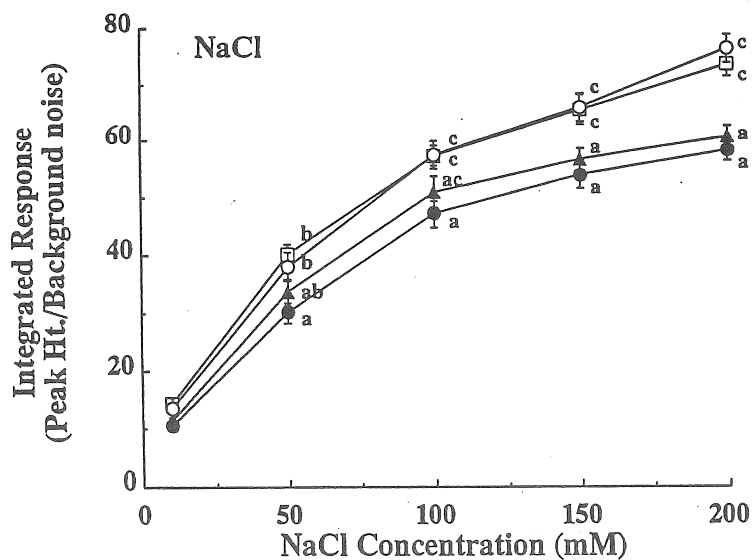


Figure 6

## Chorda tympani nerve responses to 150mM NaCl solution or 20mM Q-HCl.



**Figure 7** Chorda tympani nerve responses to various concentrations of NaCl solution. Values are means  $\pm$  SE. Differences among Zn-Def (●, n=12), Low-Zn (▲, n=9), Zn-Suf (□, n=11) and Pair-fed (○, n=10) groups were analyzed by one-way ANOVA with Tukey's multiple comparison test. Values with different letters show significant difference. a, b=p < 0.05 at 50mM, a, c=p < 0.005 at 100, 150, and 200mM.

Physiological study on the increased sodium chloride preference observed soon after the zinc-deficient diet feeding to SD rats.

Michio Komai, Tomoko Goto, and Yuji Furukawa

Division of Life Science, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University

It has been generally known that zinc-deficiency causes taste abnormality, but its effect on salt preference has not yet thoroughly been clarified especially at an earlier stage of zinc deficiency. Until now we have found out that the feeding of zinc-deficient diet causes an abrupt increase of sodium chloride preference even after 3 to 4 days of the diet feeding. Therefore, the present study was undertaken to clarify the mechanism of the increased salt preference observed in the zinc-deficient rats at an earlier stage of the zinc-deficiency.

Male, 4 weeks-old SD rats were used for the present study. The zinc-deficient (2.2 ppm Zn in the diet), low-zinc (4.1 ppm), zinc-sufficient (33.7 ppm) diets were fed with free access, and the pair-fed control group was set against the zinc-deficient group with zinc-sufficient diet. Five rats of each group were reared together in a big wire-meshed stain-less cage, and the 2 kinds of preference tests with 2-bottle system ([1] 154 mM NaCl soln and water, and [2] 0.01 mM Quinine-HCl soln and water) were undertaken from the initial stage to the severe stage of the zinc-deficiency. The taste nerve sensitivity was recorded at 0, 4th, and 42nd day of the feeding period. The consumption of drinking water and urinary salt excretion were measured daily throughout the experiment.

It was clearly confirmed that the increase of salt preference in the rats fed zinc-deficient or low-zinc diets was abruptly observed after 4 days of the feeding. At an earlier stage of the feeding period, there was no increase of urine volume, water consumption, and deterioration of taste nerve sensitivity to sodium chloride and quinine-HCl that were seen in the severe zinc-deficiency. The present result indicates that dietary signal of zinc-deficiency itself may reflect salt preference probably through central nervous system or through mineral status in the organs such as bone or liver, though further studies are necessary to prove it.