

発表番号 25

食塩・並塩・白塩溶液および深層海水の呈味性と味神経ならびに体性感覚神経応答による解析

駒井 三千夫 (東北大学大学院農学研究科)

福成真由子¹、伏見周也¹、白川 仁¹、杉山直人²、鈴木均³

(¹東北大学大学院農学研究科、²静岡工業技術センター、

³石巻専修大学大学院理工学研究科)

高度に精製された食塩については味覚受容に関してある程度の生理学のおよび主観評価的データが出されているが、味わいのある塩とされる不純物の含まれた製品の塩(並塩、白塩など)あるいは海洋深層水のようなミネラルの豊富な塩溶液の呈味性や味神経による受容に関しては、十分な検討がなされてきていないのが現状である。このため本研究では、これら製品溶液の呈味性と味神経応答(ラットでのモデル実験)についてまとめ、つぎにこれら製品あるいはこの溶液が一般体性感覚神経経路の味受容にどのような影響を及ぼしているかについて明らかにすることを目的とした。なお、手に入った塩類は、特級試薬「食塩」(=NaCl)、並塩、粉碎塩、深層海水塩(焼津港、700 m)であったので、表題と少し違っているが、これらを使用した。

その結果、以下のことが明らかにされた。

- 1) 固形塩を舌に載せることで三叉神経舌枝がじわじわと興奮する可能性があることを証明した。しかし、刺激と同時に発生する即座型応答は生じないことが分かった。
- 2) 口腔内の刺激味(炭酸のピリピリ・チクチク感)に対する三叉神経舌枝応答は、各種塩類固形物の前処理(舌の上に載せておくこと)によって大きく修飾を受けることを実証した。その修飾のされ方は、前処理した固形塩の種類によって異なることを示した。
- 3) 鼓索神経の応答から、固形物濃度がNaClと同じ場合の深層海水塩が引き起こす味応答は低いことがわかった。

17

助成番号 0248

食塩・並塩・白塩溶液および深層海水の呈味性と味神経 ならびに体性感覚神経応答による解析

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：福成真由子¹、伏見周也¹、杉山直人²、鈴木均³（¹東北大学・大学院農学研究科、²静岡工業技術センター、³石巻専修大学・大学院理工学研究科）

【研究目的】

食塩の味は、基本的には唾液中に溶けた Na^+ が舌上皮組織に存在する味蕾の味細胞のナトリウムチャンネル (Na^+ を細胞内へ輸送するタンパク質) を通過し、細胞膜の電位を変化させることによって感知される。しかし、食品中に存在する Na^+ は、多様な食品成分との相互作用等によって左右されるために、摂取する食品によっては、ナトリウムチャンネルに到達する量や時間が異なる可能性もある。

また、高度に精製された食塩については味覚受容に関してある程度の生理学的および主観評価的データが出されているが、味わいのある塩とされる不純物の含まれた製品の塩（並塩、白塩など）あるいは海洋深層水のようなミネラルの豊富な塩溶液の呈味性や味神経による受容に関しては、十分な神経生理学的検討がなされてきていないのが現状である。このため本研究では、これら製品あるいはこの溶液の呈味性と味神経応答（ラットでのモデル実験）についてまとめ、つぎにこれら製品の溶液が一般体性感覚神経経路の味受容にどのような影響を及ぼしているかについて明らかにすることを目的とした。なお、手に入った塩類は、特級試薬「食塩」(= NaCl)、並塩、粉碎塩、深層海水塩（焼津港、700 m）であったので、粉碎塩が表題と少し違っているが、これらを使用して検討を行った。

【研究方法】

1. ラット三叉神経舌枝による解析（小神経束= bundle による記録）

実験用動物には、成熟した Wistar/Std 系雌ラット 17 匹を用いた。三叉神経舌枝による神経応答記録は、Fig. 1 に示した方法によって行った。すなわち、ネンブタールとウレタンの併用麻酔下に、体温を保持して手術によって三叉神経舌枝を左側下顎骨の下から露出させ、その小 bundle（ある程度細分化した神経束）をミネラルオイル中で白金電極に固定し、

対照の電極を手術野の筋肉に接触させ、舌に各種塩類固形物、味溶液、ならびに刺激味溶液をのせた時に神経に生じたインパルス放電を増幅後に味刺激応答を、DAT テープに記録した（ステレオの片側を神経応答、もう一方は刺激経過説明の音声）。一般体性感覚神経である三叉神経の場合は、各種塩類固形物そのものと刺激味（炭酸水溶液と高濃度（2.5 M）塩化アンモニウム）を舌の上に載せて記録した。記録は、積分応答値と神経インパルス放電の二通りで行った。

1-1) 固形塩自体の応答

用いた固形塩は、食塩（和光純薬工業㈱の特級試薬「塩化ナトリウム=NaCl と略記」、99.5%以上）、並塩（ディーエスソルト㈱の「ディーエスソルト」、NaCl 95%以上、以後「並塩」と略記）、粉碎塩（第一商事㈱の「粉碎天日塩」、NaCl 93%以上、以後「粉碎塩」と略記）、深層海水蒸発残留物（以後、「深層海水塩 = DSW (deep sea water)」と略、静岡県焼津沖 700 m から汲みだしたもので、静岡工業技術センターの協力を得た）であった。固形塩の応答は、ラットの舌の上に各固形塩類を載せることによって記録した。

1-2) 炭酸水の応答と塩類前処理によるその応答の修飾

炭酸水の応答は、定法通りの手法で記録した。炭酸水は、脱イオン水に炭酸ガスを充填させて（1.2 Kg 重 / cm² で 10 分間充填）作製し、炭酸ガス濃度は開封して使用する時に一定（6,000-7,000 ppm）になるようにした。舌に何も載せない時の炭酸水応答と各種の塩類を載せた時の炭酸水応答を記録した。また、我々の研究によって、アルコールの炭酸水応答修飾作用が分かっているので、これと同じ実験を 5%アルコール（エタノール）共存下でも行った。

2. ラット鼓索神経束（whole nerve）による解析

食塩と各種塩類溶液は、前述と同じものを使用した。ただし、化学受容神経である鼓索神経応答の場合は、食塩は 0.1 M NaCl 溶液、他の塩類固形物（並塩、粉碎塩、深層海水塩）は、5.85 g/L 濃度で溶液を作り、その溶液の刺激応答を記録した。記録は、神経束全体の応答なので積分応答によってのみ行った。また、使用したラットは、Wistar/Std 系雌ラット 12 匹であった。各塩溶液の刺激応答は、ナトリウムチャンネルブロッカーである 0.1 mM アミロライドを舌の上に注ぐことによって処理した直後にも記録して、各種塩類の神経生理的呈味性の違いについて検討した。

【研究結果および考察】

1. ラット三叉神経舌枝による解析（小神経束＝bundle による記録）

1-1) 固形塩自体の応答（Fig. 2 および以下の表）

各塩類固形物を舌の上に載せた場合、予想外にも即座応答性の神経線維の興奮は全く認められなかった。しかし、15秒程度経過後に興奮が生ずる神経 bundle が認められた。応答した bundle の割合は、下の表に示したように、並塩で31.6%、NaCl と粉碎塩の場合が26.3%、深層海水塩の場合には5.3%であった。すなわち、深層海水塩を除く各塩類を舌に載せただけで一部の三叉神経舌枝ニューロンの興奮が認められた。この神経放電イ

各塩類固形物	応答のあった bundle 数 / 調べた bundle 数 (応答%)
NaCl	5 / 19 (26.3%)
並塩	6 / 19 (31.6%)
粉碎塩	5 / 19 (26.3%)
深層海水塩	1 / 19 (5.3%)

ンパルス様子は、Fig. 2 に示した一例の通りである。深層海水塩であまり応答が認められなかったのは、化学成分がこれら3種類の塩類固形物とは異なるためと考えられた。

1-2) 炭酸水の応答と塩類前処理によるその応答の修飾

舌温と同じ温度の炭酸水の応答は、一般に Fig. 3（積分応答）のようになる。すなわち、刺激直後の神経活動の抑制があり（前抑制）、引き続いて興奮があつて（興奮）、その後に再び強い抑制が続く（後抑制）のが、三叉神経舌枝における大部分の神経線維（ニューロン）が持つ特徴である。ここでは、各塩類固形物の処理によって、炭酸水の応答がどのように修飾を受けるのかについてまとめてみた。

1-2) 塩類前処理後の炭酸水ならびにアルコール入り炭酸水応答

22～25本の bundle を調べてまとめた結果、炭酸水刺激の積分応答値は、各種塩類固形物の処理後に前抑制が弱くなり（NaCl と並塩処理後で対照（CO₂）と比べて有意差あり）、興奮は高くなる傾向にある（統計的には有意性なし）ことがわかった（Fig. 4）。しかし、深層海水塩処理の場合は、その修飾の度合いは弱かった。これらデータの神経インパルス放電結果のうち一例を、Fig. 5 に示した。このように、塩類を載せた後で炭酸水刺激を行うと、インパルス放電（スパイク）の出現間隔が修飾されることが分かった。しかし、その修飾パターンを分類するには、更なるスパイク解析が必要である。

また、塩類前処理後のアルコール入り炭酸水応答の興奮については、並塩処理後の場合にとくに高い値（無処置の場合の1.49倍だが、統計的有意性なし）となった（Fig. 6）。しかし、並塩の前抑制の値は、NaCl や粉碎塩と同程度となり、無処置の場合よりも弱くなつ

ていた（3群とも対照との有意差あり）のは、先ほどのアルコールの入っていないデータと同様の傾向であった。深層海水塩の場合には、前抑制の減少が強くないことが特徴であるが、興奮の方は並塩に続いて高い値（無処置の1.24倍、統計的有意性なし）となった。

いずれにしても、各種塩類固形物の違いで炭酸水応答が修飾されること、またアルコール等の食品成分が入るとその修飾のされ方が異なることが分かった。

2. ラット鼓索神経束 (whole nerve) による解析

鼓索神経束の応答結果は、0.1M NaCl 溶液の刺激応答を100にした場合の相対応答値で示してある (Fig. 7)。並塩ならびに粉碎塩溶液の鼓索神経束応答は、NaCl の場合とほとんど同じであった。すなわち、これらの NaCl 含量を表す程度の違いで鼓索神経束応答が記録された。しかし、深層海水塩溶液の場合には、平均値が86%程度に低下していた。これは、固形物としては同じ重量でも、深層海水塩にはナトリウム以外の成分が多く入っていてナトリウム濃度が相対的に低いために、この低い応答結果になったことを示している。

また、ナトリウムチャンネルブロッカーであるアミロライド処理後には、ナトリウムイオンの味細胞への流入が遮断されるが、この処理によって、NaCl、並塩、粉碎塩ともに処理前を基準にすればどの塩溶液応答も同程度に抑制されていた。しかし、深層海水塩の場合には、処理前の応答がすでに低い値であったが、アミロライド処理後の応答が他の3群とあまり変わらない値であった。これは、並塩と粉碎塩は特級 NaCl 試薬と同じ程度ではあるが僅かずつ少ないナトリウム含量であるが、深層海水塩の場合にはナトリウム分は少ないが塩素等の他の成分が他の塩と変わらないために、このような応答になったものと推察される。

いずれにしても、固形物濃度が NaCl と同じ場合の深層海水塩が引き起こす味応答は低いことがわかった。今後、深層海水塩が持つ塩化マグネシウム等の苦味の抑制に関する神経生理学的検討を行う予定であるが、これは、苦味の受容を特異的に捉える必要性から、神経束全体ではなくて細かく分けて記録する、いわゆる fiber recording によって行うことが必要と考えている。

以上をまとめると、以下のことが明らかにされた。

- 1) 固形塩を舌に載せることで三叉神経舌枝がじわじわと興奮する場合があることを初めて証明した。しかし、刺激と同時に発生する即座型応答は生じないことが分かった。
- 2) 口腔内の刺激味（炭酸のピリピリ・チクチク感）に対する三叉神経舌枝応答は、各種塩類固形物の前処理（舌の上に載せておくこと）によって大きく修飾を受けることを実証した。その修飾のされ方は、前処理した固形塩の種類によって異なることを示した。
- 3) 鼓索神経の応答から、固形物濃度が NaCl と同じに設定した深層海水塩が引き起こす味応答は低いことがわかった。

【今後の課題】

- 1) 固形塩の刺激によって現れた神経スパイクの性質 (どのようなタイプの刺激に反応する神経線維であるか) の解析
- 2) 固形塩のもつ刺激味の修飾作用の神経生理学的解明 (スパイク解析によって、どのような神経線維が遅れて興奮するのか、あるいは早めに興奮するのか、などの解明)。これによって、味の修飾のされ方の法則性をつかむことができる。
- 3) まずい食塩とおいしい食塩の神経生理学的篩い分けを行う。また、深層海水塩の苦味マスキングに関する神経生理学的研究を行う。このいずれもが、苦味だけに (あるいは苦味に最も大きく) 反応する神経線維を選んで記録する (細かくした状態で記録する) いわゆる fiber recording が必要であろう。

【文献】

1. 新野靖、ほか：「市販食塩の品質」、日本調理科学会誌, **32**, 133-144, 1999.
2. 橋本壽夫：「製塩法と塩の品質」、日本食品科学工学会誌, **49**, 437-446, 2002.
3. 日本化学会編：味とにおいの分子認識, p.11, and p.76-, 1999 (学会出版センター)
4. Tomoko Goto, Michio Komai, Hitoshi Suzuki, and Yuji Furukawa: Long-term zinc deficiency decreases taste sensitivity in rats. *J. Nutr.*, **131**, 305-310, 2001
5. 駒井三千夫：「辛味物質等の刺激味成分による味覚修飾作用」、FFI ジャーナル、No.188、4-12, 2000.
6. 駒井三千夫：「味覚と栄養」、季刊化学総説 42、「味とにおいの分子認識 (栗原良枝、小林彰夫編)」、(分担執筆)、日本化学会編、1998年、101-111、学会出版センター刊
7. Komai, M. and Bryant, B.P.: Acetazolamide specifically inhibits lingual trigeminal nerve responses to carbon dioxide. *Brain Res.*, **612**, 122-129, 1993.

Fig. 1 Electrophysiological method for recordings from the chorda tympani and lingual trigeminal nerves

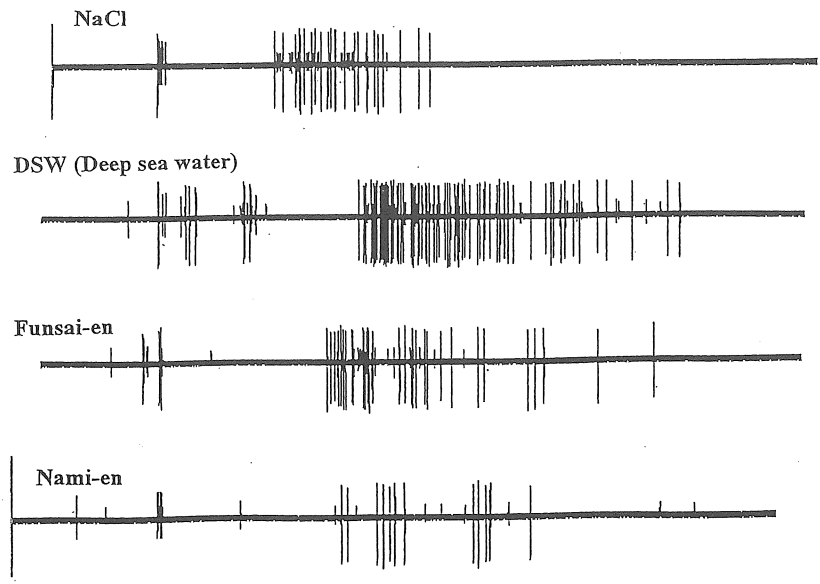
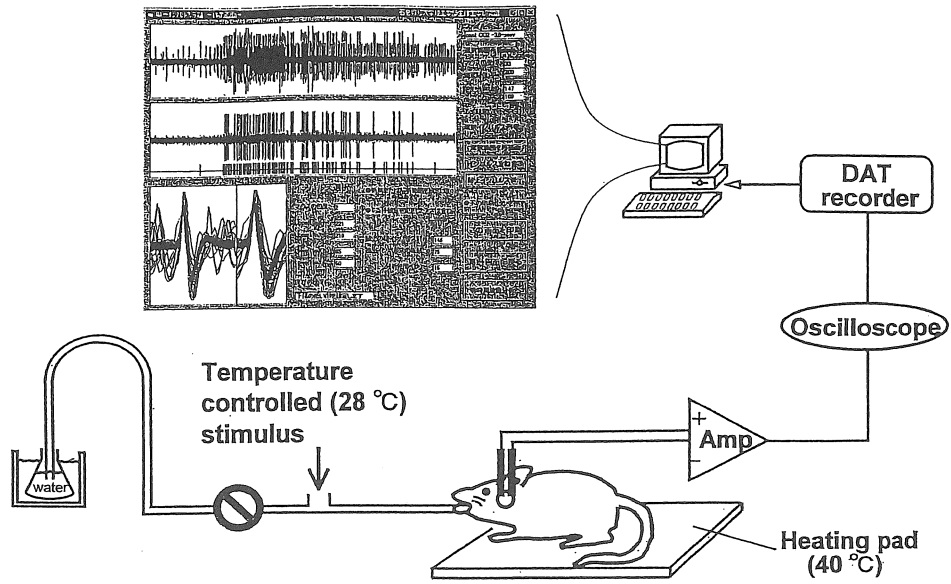


Fig. 2 Typical example of appeared spikes through the lingual trigeminal nerve caused by various solid salts treatment on the tongue surface.

三叉神経舌枝応答

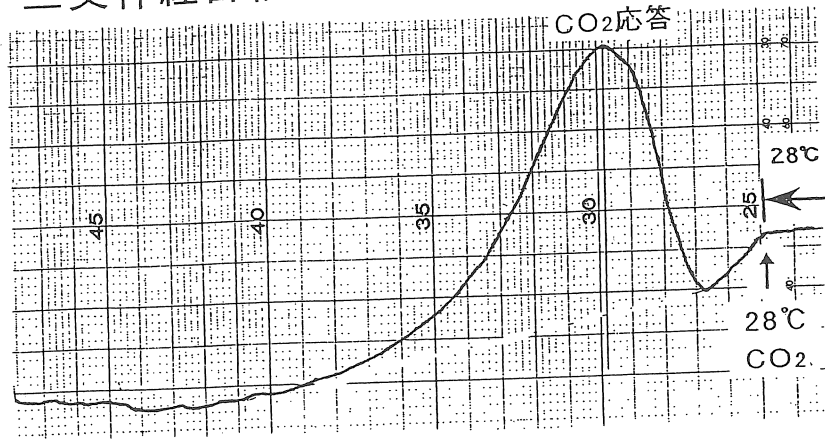


Fig. 3 Typical example of the lingual nerve response to carbonated water (tongue temperature = 28°C)

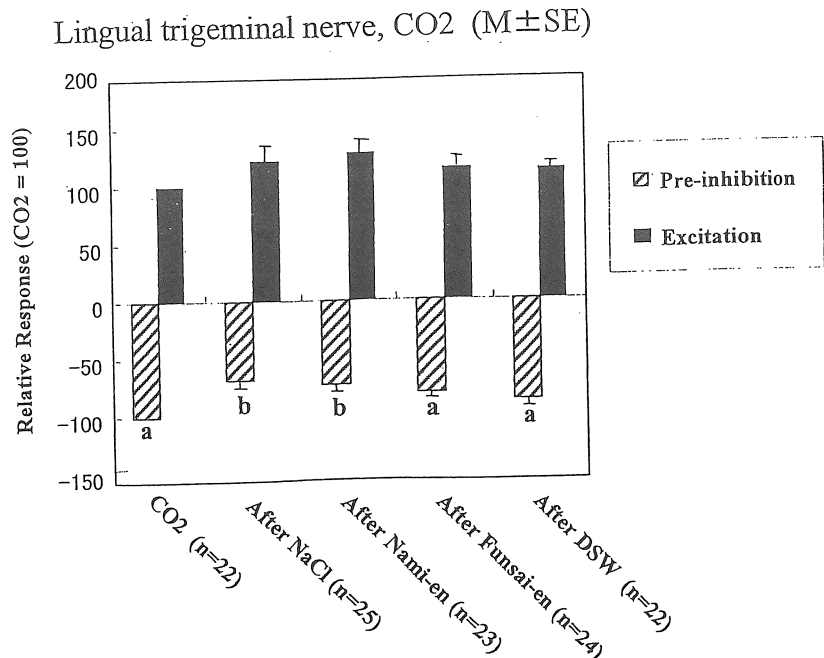


Fig. 4 Lingual trigeminal nerve responses to "CO2"

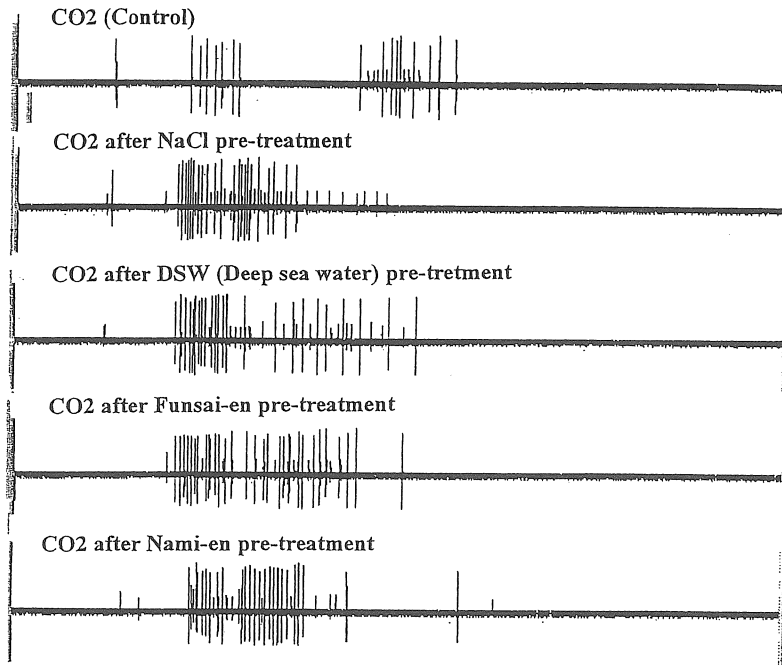


Fig. 5 The latency and frequency of spikes through the lingual trigeminal nerve caused by carbonated water stimulation were affected by the pretreatment of various solid salt on the tongue surface.

Lingual trigeminal nerve, "CO2 in Alc" ($M \pm SE$)

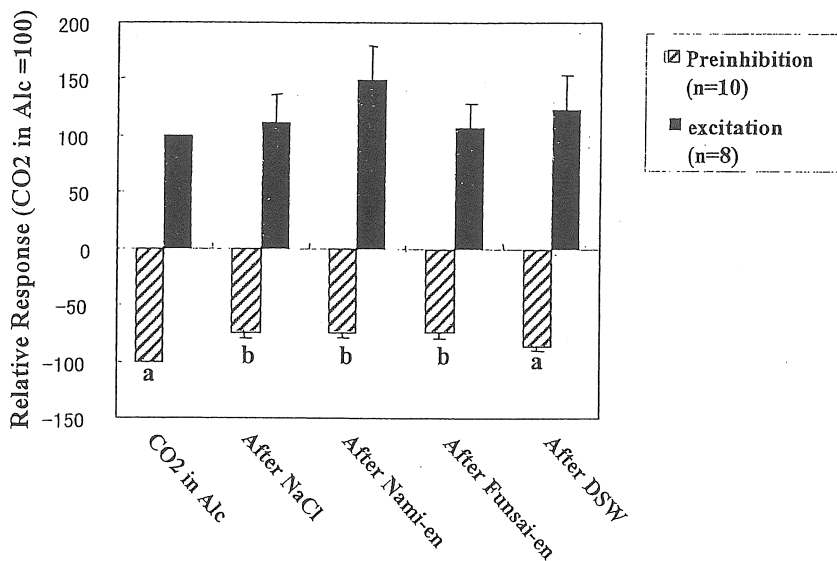


Fig. 6 Lingual trigeminal nerve responses to "CO2 in Alc"

鼓索神経 各塩類溶液の応答とそのAmilorideによる抑制 (M±SD; 各群n=12)

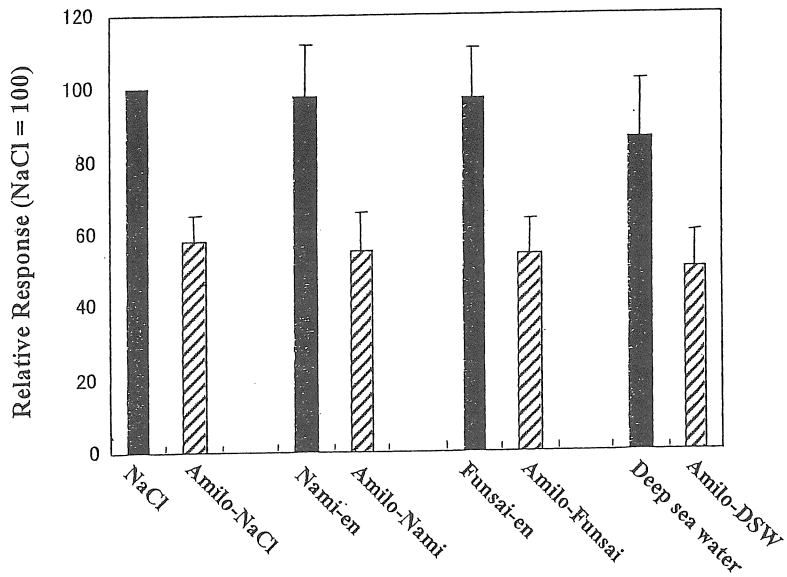


Fig. 7 The chorda tympani nerve responses to various salts and the effect of amiloride treatment on the tongue (0.1M NaCl response = 100)

Neurophysiological analysis of the taste and lingual trigeminal nerves responses to various grade of edible salts (purified NaCl, Nami-en, Funsai-en, and dried deep sea water) in rats.

Michio Komai¹, Mayuko Fukunari¹, Shuya Fushimi¹, Naoto Sugiyama², and Hitoshi Suzuki³

¹Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, ²Shizuoka Industrial Research Center,

³Ishinomaki-Senshu University

Summary

To elucidate the differences in the taste and lingual trigeminal nerves responses to various grade of salts (purified NaCl (> 99.5%), Nami-en (> 95% of NaCl), Funsai-en (> 93% of NaCl), and dried deep sea water) and its effect on the irritation sensation through the tongue, the electrophysiological studies were undertaken using Wistar rats. Deep sea water was taken from 700 m depth of Yaizu Bay of Shizuoka Prefecture, and dried in our laboratory to use it as a solid salt.

The present study showed for the first time that solid salts of NaCl (5 bundles out of 19), Nami-en (6/19), Funsai-en (5/19), and Deep sea water (1/19) can cause strong chemical sensation through the lingual trigeminal nerve which is not related to tactile sensation. The lingual trigeminal reception of carbonated water with or without ethanol was also modified by the pre-treatment of solid salts (NaCl, Nami-en, and Funsai-en). The taste nerve responses to various grade of salts solution were also analyzed by recordings from the whole bundle of chorda tympani nerve, and found that there was no clear change among NaCl, Nami-en, and Funsai-en, whereas deep sea water of the same solid concentration had less integrated response though without statistical significance.