

塩味嗜好性の変化が咀嚼運動および形態に及ぼす影響

乾 千珠子^{1,3}, 乾 賢², 吉岡 芳親¹, 上田 甲寅⁴, 脇坂 聡³

¹大阪大学免疫学フロンティア研究センター, ²大阪大学大学院人間科学研究科, ³大阪大学大学院歯学研究科,
⁴大阪歯科大学口腔解剖学講座

概要 塩分量を抑えた食べ物は、味が薄く感じられ、美味しさという点に欠ける。『美味しい』ことは贅沢なように思われるが、食べ物を摂取しておいしいと感じることは、食物に含まれる物質が体にとって必要であるということの意味するかもしれない。食べても満足感のない食事は、食欲も低下し、そのような状態が続けばかえってストレスになる可能性がある。したがって、『塩味』の嗜好性としての役割は食べものの味のおいしさを左右する上で重要な役割を担っているものと考えられる。

これまでの我々の実験で、胎児期から低塩飼料で飼養したラットにおいて、咀嚼運動に重要な下顎頭の大きさが、通常飼料を摂取した場合と比べて、一方向的に大きくなっていた。顎骨の健全な成長には適切な咀嚼運動が必要であるといわれている。また、味覚嗜好性の違いが咀嚼運動にも影響を及ぼす(十河ら, 1995)。これらのことから、低塩飼料と通常飼料の嗜好性の差が、咀嚼回数や強度に違いを生じさせ、先行研究における下顎頭の不全形成がみられたという可能性はある。そこで本研究では、塩味嗜好性と咀嚼運動との関係に着目し、“咀嚼に関わる顎骨の形成には塩分摂取が必要である”ことを明らかにすることを目的とした。はじめに、低塩飼料の摂取時期による下顎骨形成への影響について検討を行い、次に、嗜好性の相違が下顎骨形態に及ぼす影響について検討を行った。

その結果、離乳後から低塩飼料を摂取したラットは、通常飼料を摂取したラットと比べ、下顎骨全体の大きさは縮小したにも関わらず、下顎頭の側方方向の幅径は長かった。同様に、離乳後から 11 週齢まで苦味を呈するデナトニウムを混和させて作製した飼料で飼育したラットの下顎頭の側方方向の幅径は、通常飼料また甘味を呈するスクラロースを添加した飼料と比べ有意に長くなっていた。これらの結果から、離乳後からの低塩飼料の摂取による下顎頭の形態変化は、低塩飼料の嗜好性の低下によって生じた可能性があると考えられる。しかし、体液調整に重要な塩分の含有量が少ない低塩飼料では、摂取後体調不良を生じ、ラットが摂取量を制限していたという可能性も考えられる。水分摂取量など代謝変化との関連を調べるのが急務である。しかしながら、本研究で得られた低塩飼料の摂取による下顎頭の形態変化は、塩分の複雑で多岐にわたる役割の一つを示唆しているものと考えられ、今後さらに詳細な検討が必要である。

1. 研究目的

食塩の摂り過ぎで血圧が高い状態が続くと、血管や心臓に負担がかかり、脳卒中や心筋梗塞、心不全、不整脈、動脈瘤、腎不全など、多くの循環器病が起こることが知られている。したがって、塩分量を抑えた食事には当然である。しかし、塩分量を抑えた食べ物は、味が薄く感じられ、美味しさという点に欠ける。『美味しい』ことは贅沢なように思われるが、食べ物を摂取しておいしいと感じ

ることは、食物に含まれる物質が体にとって必要であるということの意味する。食べても満足感のない食事は、食欲も低下し、そのような状態が続けばかえってストレスになる可能性がある。したがって、『塩味』の嗜好性としての役割は食べものの味のおいしさを左右する上でも重要な役割を担っているものと考えられる。

動物においても、苦味や甘味を添加した飼料を摂取させると、添加した味質によって摂食量に違いが生じる。甘

味を添加した飼料の摂食量は通常飼料の摂食量と比べて多く、一方、苦味では少ない⁽¹⁾。このような味の好き嫌いを味覚嗜好性という。これまでの我々の研究で、塩分量の少ない飼料をラットに自由に摂取させると、通常飼料の場合と比べて摂食量が減少するという結果を得た。このことは、低塩飼料がラットにとって好みの味ではないことを意味する。さらに、我々のこれまでの実験で、胎児期から低塩飼料で飼育したラットにおいて、咀嚼運動に重要な下顎頭の大きさが、通常飼料で飼育した場合と比べて、一方向的に大きくなっていった。顎骨の健全な成長には適切な咀嚼運動が必要であることが知られている。また、味覚嗜好性の違いが咀嚼運動に影響を及ぼすという報告もある^(2, 3)。これらのことから、低塩飼料と通常飼料の嗜好性の差が、咀嚼回数や強度に違いを生じさせ、先行研究における下顎頭の不全形成がみられたという可能性がある。そこで本研究では、塩味嗜好性と咀嚼運動との関係に着目し、“咀嚼に関わる顎骨の形成には塩分摂取が必要である”ことを明らかにすることを目的とした。先行研究では胎児期からの低塩飼料の摂取による影響をみていたことから、発育、成長過程のどの段階における影響か不明であった。そのため、はじめに、低塩飼料の摂取が下顎骨形成に及ぼす時期について検討を行い、次に、嗜好性の相違が下顎骨形態に及ぼす影響について検討を行った。

2. 研究方法

2. 1 実験1:胎生・乳児期または成長期における低塩食摂取による下顎骨形成への影響

2. 1. 1 実験動物

実験には、Wistar 系雌ラット、妊娠 1 日齢を 6 匹用いた

(日本エスエルシー株式会社)。すべてのラットは、購入後、仔ラットの出生を考慮した大きさの個別ケージ(345×403×177 mm)に入れ、室温、湿度、12 時間明暗サイクルが設定された環境で飼育された。水・餌は自由摂取とした。

本実験1および2は、実験を実施した、大阪大学動物実験委員会および大阪歯科大学動物実験委員会において承認され、それぞれ各大学の動物実験指針に基づき行った。

2. 1. 2 実験手続き

飼料は、通常飼料をコントロール(塩分含有量約 0.2%, Control)とし、低塩飼料は塩分含有量約 0.03%(Sodium restricted)で作製されたものを用いた(オリエンタル酵母株式会社)。飼料の硬さは同程度であった。妊娠 1 日齢の母ラットを通常飼料で飼育する群、または低塩飼料で飼育する群に分けた。低塩飼料の 1 日の摂食量を調べたところ、通常飼料と比べて摂食量は平均 7 割程度であった。このことから、摂取カロリーの違いにより顎骨の発育、成長への影響の可能性を考慮し、低塩飼料を呈示した場合と摂取カロリーがほぼ同等となるように通常飼料を制限した量で呈示する制限食(Food restricted)群を設けた。したがって、実験群は合計 3 群(各 2 匹)であった。実験期間中は、水また各飼料は自由摂取とした。仔ラットの出生後、母ラットには各群とも続けて同飼料を呈示し、仔ラットが離乳するまで母ラットと同一ケージにて飼育した。仔ラットが 3 週齢になった時点で母ラットから離し、個別のケージで飼育した。本実験では雄性仔ラットのみを用いた。

各実験群の飼料呈示スケジュールをまとめたものを、Fig. 1 に示す。通常飼料で飼育した母ラットから出生した仔ラットを、通常飼料で飼育する群(Control-Control: CC,

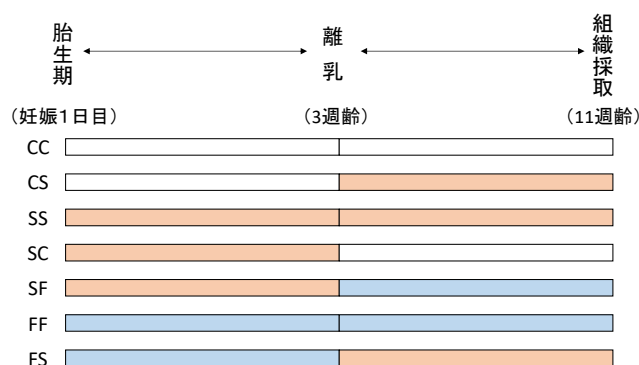


Fig. 1. Schedules of the presentation for each chow in each group. White, red or blue bars indicate the presentation term for control, sodium restricted or food restricted chow.

n = 5) と低塩飼料で飼育する群 (Control-Sodium restricted: CS, n=5) の 2 群に分けた。低塩飼料で飼育した母ラットから出生した仔ラットは、低塩飼料で飼育する群 (Sodium restricted-Sodium restricted: SS, n=5), 通常飼料で飼育する群 (Sodium restricted-Control: SC, n=6), または制限食で飼育する群 (Food restricted-Control: FC, n = 4) の 3 群にわけた。また、制限食で飼育した母ラットから出生した仔ラットを 2 群に分け、離乳後そのまま同じ制限食で飼育する群 (Food restricted-Food restricted: FF, n = 4), および低塩飼料で飼育する群 (Food restricted-Sodium restricted: FS, n=7) に分けた。したがって、実験群は合計 7 群であった。仔ラットの群分けでは、同一の母ラットから出生した仔ラットが一つの群に偏らないようにした。離乳後、3 週齢、5 週齢、7 週齢、11 週齢時に各群すべての仔ラットの体重測定を行った。

実験後、麻酔下 (ペントバルビタール, 50 mg/kg) において、PBS で瀉血し、4%パラフォルムアルデヒドにて灌流固定した後、左右両側の下顎骨を取り出し、後固定した。

2. 1. 3 計測方法

採取した下顎骨を、デジタルノギス (Mitsutoyo 社製) を用いて、各部の長さを少数点 2 桁まで測定した。測定部位は、①下顎骨吻側から尾側間の長さ、②下顎骨の高さ、③下顎頭吻側方向の幅径、④下顎頭および下顎頭を含む高さ、および⑤下顎頭の側方方向の幅径とした (Fig. 2)。測定は 3 名で行い、各測定者の平均値をその部位の値とした。各部位の値は、一元配置分散分析を行い、下位検定として HSD 検定を用いた。

2. 2 実験 2: 味覚嗜好性の相違による下顎骨形成への影響

2. 2. 1 実験動物

実験には、Wistar 系雄性ラットを 21 匹用いた (日本エスエルシー株式会社)。実験 1 において、3 週齢以降からの低塩飼料の摂取が、下顎頭副径の形態に変化を生させる可能性が高いという結果を得たことから、本実験には 3 週齢のラットを用いた。すべてのラットは、購入後、個別ケージ (225×338×140 mm) に入れ、室温、湿度、12 時間明暗サイクルが設定された環境に数日間慣れさせた後、実験を開始した。

2. 2. 2 実験手続き

飼料は、実験 1 と同様に、通常飼料をコントロール (塩分

含有量約 0.2%, Control) とし、低塩飼料は塩分含有量約 0.03% (Sodium restricted) で作製されたものを用いた (オリエンタル酵母株式会社)。さらに本実験では、苦味を呈するデナトニウムを添加した飼料、およびスクラロースを添加した飼料を作製した。あらかじめ、コントロールとした通常飼料を粉末にし、それぞれの物質を混和させた飼料を呈示し、その摂取量が低塩飼料の摂取量とほぼ同等となるように設定し、通常飼料または低塩飼料と同等の硬さで作製されたものを用いた (オリエンタル酵母株式会社)。

実験動物は、通常飼料 (Control 飼料) で飼育する群 (Con 群)、デナトニウムを添加した飼料 (Denatonium 飼料) で飼育する群 (Den 群)、スクラロースを添加した飼料 (Sucralose 飼料) で飼育する群 (Suc 群)、および低塩飼料 (Sodium restricted 飼料) で飼育する群 (Sre 群) の 4 群に分けた。3 週齢、5 週齢、7 週齢、および 11 週齢に各群すべてのラットの体重測定を行い、経過観察を行った。実験後、麻酔下 (ペントバルビタール, 50 mg/kg) において、PBS で瀉血し、4%パラフォルムアルデヒドにて灌流固定した後、左右両側の下顎骨を取り出し、後固定した。

2. 2. 3 計測方法

採取した下顎骨を、デジタルノギス (Mitsutoyo 社製) を用いて、各部の長さを少数点 2 桁まで測定した。測定時に、測定者がどの実験群かを特定できないようにした。測定部位は、実験 1 と同様に、①下顎骨吻側から尾側間の長さ、

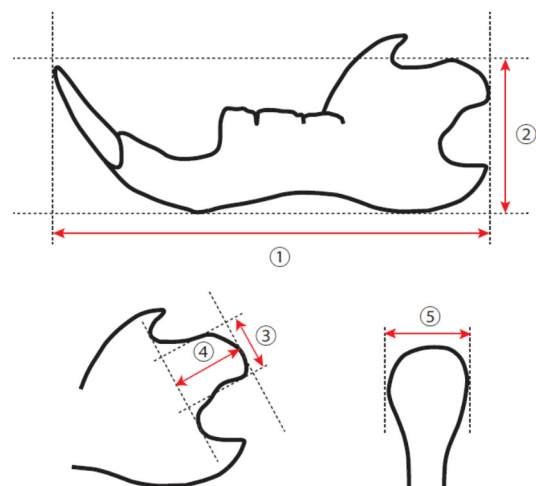


Fig. 2. Measurement of each length in each part of mandibula and mandibular condyle

②下顎骨の高さ, ③下顎頭吻尾側方向の幅径, ④下顎頭および下顎頭を含む高さ, および⑤下顎頭の側方方向の幅径とした (Fig. 2)。測定は3回行い, その平均値をその部位の値とした。各部位の値は, 一元配置分散分析を行い, 下位検定としてHSD検定を用いた。

3. 研究結果

3. 1 実験1:胎生・乳児期または成長期における低塩食摂取による下顎骨形成への影響

3. 1. 1 体重

各群の体重変化を Fig. 3 に示す。3 週齢時の体重を各群で比較すると, 低塩飼料または制限飼料で飼育された母ラットから出生した仔ラット(SS, SC, SF, FF および FS 群)の体重は, 通常飼料で飼育した母ラットから出生した仔ラット(CC および CS 群)の体重と比べて有意に少なかった。制限飼料で飼育された母ラットから出生し, かつ 3 週齢から低塩飼料または制限飼料で飼育した仔ラット(FF および FS 群)の体重は, 11 週齢時においても CC, CS, SS, SC および SF 群の体重と比べると有意に少なかった。また, 低塩飼料で飼育した母ラットから出生した仔ラットで, 3 週齢から通常飼料で飼育された SC 群の体重は, CC 群および CS 群とほぼ同等となった。

3. 1. 2 各部位大きさ

各群の下顎骨全体および下顎頭の代表例の写真を Fig. 4 および Fig. 5 に示す。また, 各部位長さを Fig. 6 に示す。①下顎骨全長(吻尾側), ②下顎骨高さ, ③下顎頭幅径(吻尾側)および④下顎頭の高さにおいては, 3 週齢から通常飼料で飼育した CC 群, CS 群, および SC 群と比べ, SF 群, FF 群, FS 群は小さかった。一方, ⑤下顎頭の幅径(側方)においては, SS 群の下顎頭の幅径(側方)の長さは, 同じ低塩飼料で飼育された母ラットから出生した仔ラットで, 3 週齢から通常飼料で飼育した SC 群よりも長かった。また, SS 群の下顎頭の幅径(側方)の長さは, 同等の摂取カロリー量で飼育された SF 群および FF 群よりも長くなる傾向がみられた。制限飼料で飼育された母ラットから出生した仔ラットのうち, 3 週齢から低塩飼料で飼育した FS 群の下顎頭の幅径(側方)の長さは, FF 群よりも長くなっていった。

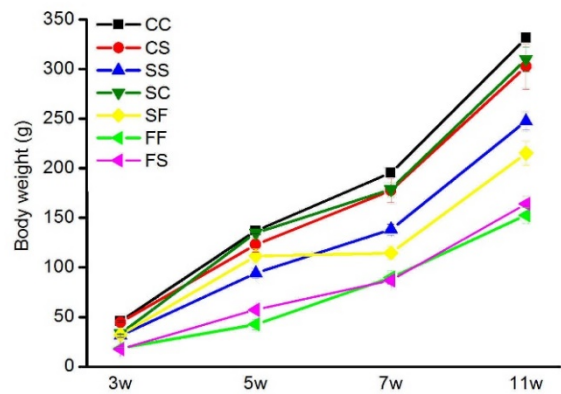


Fig. 3. Body weight changes in 3, 5, 7 and 11-week-old of each group. Mean \pm SEM.

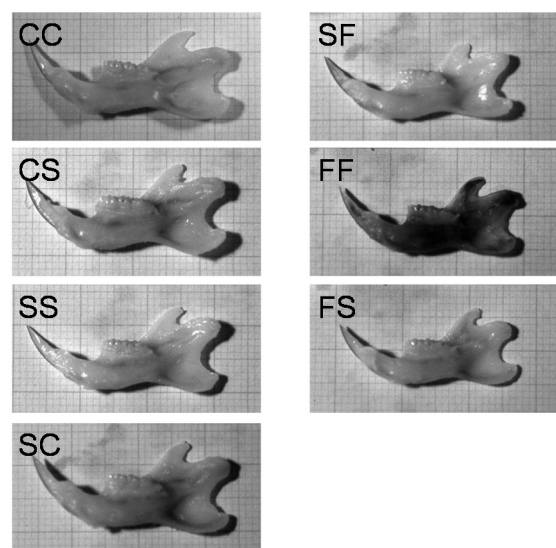


Fig. 4. Representative pictures of whole mandibula in each group

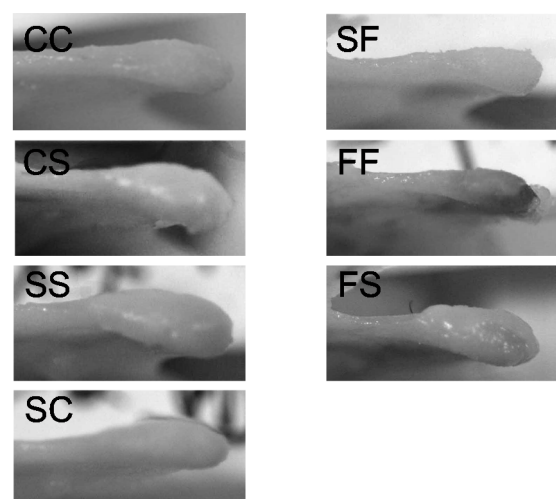


Fig. 5. Representative pictures of mandibular condyle in each group

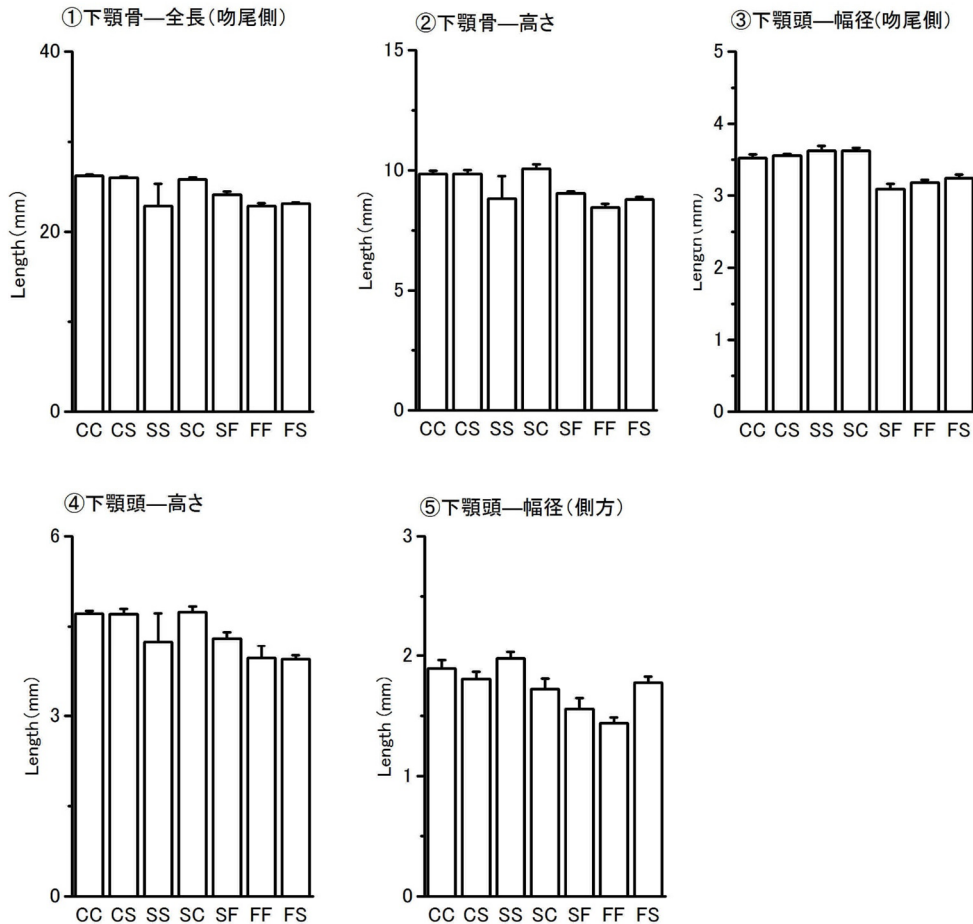


Fig. 6. Lengths of each part for mandibula and mandibular condyle in each group. ①Length of rostrocaudal mandibula ②Height of mandibular ③Length of rostrocaudal mandibular condyle ④Height of rostrocaudal mandibular condyle ⑤Width of rostrocaudal mandibular condyle (lateral direction). Mean ± SEM.

3. 2 実験2: 味覚嗜好性の相違による下顎骨形成への影響

3. 2. 1 体重

各群ラットの11週齢時の体重を Fig. 7 に示す。測定の結果, Sre 群の体重は Con 群と比べて少なかった。

3. 2. 2 各部位大きさ

Fig. 8 に各群ラットの各部位の長さを示す。①下顎骨全長(吻尾側), ②下顎骨高さ, ③下顎頭幅径(吻尾側)および④下顎頭の高さにおいては, 群間で差はみられなかった。一方, ⑤下顎頭の幅径(側方)においては, Den 群の下顎頭の幅径(側方)の長さは, Con 群または Suc 群の下顎頭の幅径(側方)の長さとは比べ, 有意に長かった。

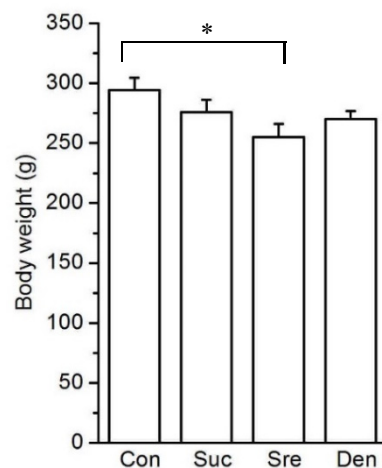


Fig. 7. Body weight in 11-week-old of each group. Mean ± SEM. * $p < 0.05$.

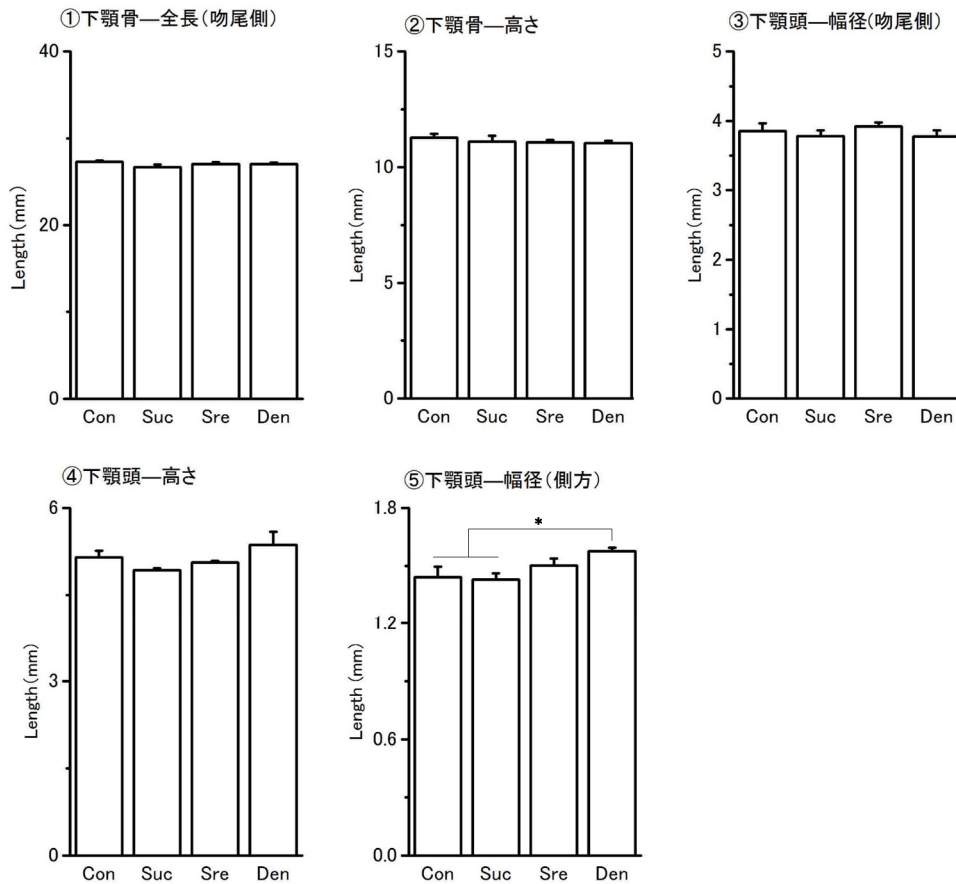


Fig. 8. Lengths of each part for mandibula and mandibular condyle in each group. ①Length of rostrocaudal mandibula ②Height of mandibular ③Length of rostrocaudal mandibular condyle ④Height of rostrocaudal mandibular condyle ⑤Width of rostrocaudal mandibular condyle (lateral direction). Mean ± SEM. * $p < 0.05$.

4. 考 察

実験1の結果から、低塩飼料および制限飼料の摂取により、体重が減少し、また下顎骨の大きさも縮小したことから、これらの飼料の摂取は全体的な体の成長に影響を及ぼすことがわかった。このことは、妊娠期におけるエネルギー摂取量が生時の子供の体重および骨格に影響を与えることを意味するものと考えられ、多くの報告と一致している^(4, 5)。低塩飼料の摂取により全体的な体の大きさが小さくなったにも関わらず、下顎頭の側方方向の幅径は長く、特に離乳後から摂取した場合には、その傾向が強くとめられた。摂取するエネルギー量が少なければ、体重は減少し、骨格形態は縮小するが、低塩飼料の摂取によって下顎頭の側方方向への長さが増大することは、それらと真逆の結果となる。低塩飼料の摂取量が、通常飼料の摂食量と比べると7割程度であったことを考慮すると、

この飼料がラットにとって積極的に摂取するようなものではない、つまり、嗜好性の高い飼料ではなかったと推察される。このような嗜好性の変化は咀嚼運動に影響を及ぼすという報告⁽³⁾がある。また、下顎頭の形成が食物の硬さなどによる咀嚼運動の偏りによる影響を受けることが知られている^(5, 6)。これらのことから、低塩飼料のような好ましくない飼料を無理に摂取することで、咀嚼運動に偏りを生じさせた可能性がある。そこで、実験2では、飼料に対する嗜好性が顎骨形成に影響するのかを検討するため、苦味を呈するデナトニウムを飼料に混和させ、いわゆる、積極的に摂取する飼料ではないものを作製し、3週齢からラットに自由摂取させ、11週齢まで飼育した。デナトニウム添加飼料は、低塩飼料を自由摂取させた場合と同等の摂取カロリーとなるように作製したため、デナトニウム添加飼料で飼育した群の体重は、スクラロース添加飼料および低塩飼

料で飼育した群の体重とほぼ同等であった。しかし、デナトニウム添加飼料で飼育した群のラットの下顎頭の側方方向の幅径は、摂取カロリーが多いはずの通常飼料で飼育した群のラットとスクラロース添加飼料で飼育した群のラットの下顎頭の側方方向の幅径より長かった。統計的有意差はみられなかったが、低塩飼料で飼育した群においてもデナトニウム添加飼料で飼育した群のラットと同様に下顎頭の側方方向の幅径は長くなる傾向を示した。高濃度の塩酸キニーネを添加した飼料をラットに呈示した際の行動分析および咀嚼筋の筋電図を記録した報告³⁾では、1回の咀嚼器官が短い、1回の咀嚼期間中のバースト放電数が少ない、咀嚼期間の数が多く、摂食期間中の総バーストが多い、バースト周期が早い、また各バーストの大きさが小さい、という特徴がみられたという。本実験では、塩酸キニーネの代わりにデナトニウムを用いたが、デナトニウム添加飼料を呈示したラットにおいても、1回の咀嚼期間が短く、摂食周期が短くなっていた。物質は異なるが同じ苦味を呈する機能を持つことから、十河ら³⁾の行動実験の結果と一致していると考えられる。また、本実験では、デナトニウム添加飼料を摂取した5匹中3匹に嫌悪性行動⁷⁾である、gaping や forelimb flailing がみられた。このような行動表出から、空腹を避けるために最低限必要なエネルギーは摂取するものの、やはり積極的に摂取したい飼料ではなかったと考えられる。低塩飼料の摂取ではこのような嫌悪性行動はみられなかったが、摂取量の減少を考慮すると、デナトニウム添加飼料と同様に積極的に摂取できる飼料ではなかったことが推察される。

これらのことから、成長過程における塩味嗜好性を低下させた低塩分食が咀嚼運動に偏りを生じさせ咀嚼機能の要となる下顎頭の形態を変化させることが示唆された。下顎頭の形成不全は、咀嚼機能を低下させるだけでなく、咬合機能や唾液分泌にも影響を及ぼし、重篤な疾患になりかねない。本研究で得られた低塩食の摂取による下顎頭の形態変化は、塩分の複雑で多岐にわたる役割の一つが示され、今後、詳細に検討する必要がある。

5. 今後の課題

本研究の実施にあたり、飼料作製の準備段階で時間を

要したこと、また、自身の職場の移動により、本年度中に詳細な行動解析、CT または MRI を用いた構造比較、および組織学的解析に至らなかった。しかし、本実験の形態計測の結果から、塩味の嗜好性が下顎頭の形成の変化に影響を及ぼした可能性は高いものと考えられる。一方で、塩分の機能には体液調整としての役割を持つことから、低塩飼料を摂取したラットは、摂取後の体調不良などを生じ、摂取量を制限していたという可能性も考えられる。摂食量、水分摂取量および代謝量との関連を調べるのが急務である。

本研究から生命における塩味嗜好性の役割を明らかにするための基礎的研究の成果が得られたと考えられ、今後、イメージング技術などを用いて塩味嗜好性と咀嚼機能との関連の詳細を解明したい。

6. 文献

- 1) Inui-Yamamoto C, Furudono Y, Yamamoto T (2009) Hedonics of taste influence the gastric emptying in rats. *Physiol Behav* 96(4-5), 717-722.
- 2) Yamamoto T, Matsuo R, Fujiwara T, Kawamura Y (1982) EMG activities of masticatory muscles during licking in rats. *Physiol Behav* 29(5), 905-913.
- 3) 十河宏行, 裕 哲崇, 山本 隆 (1995) ラットの咀嚼行動に及ぼす味覚の効果, 日本味と匂学会誌 2, 371-374.
- 4) 鈴木美季子, 森 恵見, 中西由季子, 木村修一 (2010) ラットにおける妊娠前期の極端な制限食が生後仔ラットの体組成に及ぼす影響. *Trace Nutrients Research* 27, 69-73.
- 5) 瀧上啓志 (2002) 飼料の形状, 栄養量がラット咀嚼器官の成長や発達に及ぼす影響についての検討, 滋賀医大誌 17, 29-41.
- 6) 添野一樹 (1992) 固形飼料ならびに粉末飼料ラットの咀嚼筋機能および下顎枝の成長発育に関する研究. 岩医大歯誌 17, 1-15.
- 7) Grill HJ and Norgren R (1978) The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain Res* 143, 263-279.

The Effects of Shift in Salt Palatability on the Masticatory Muscles and Mandibular Morphologies

Chizuko Inui-Yamamoto¹, Tadashi Inui¹, Yoshichika Yoshioka¹, Katsura Ueda² and Satoshi Wakisaka¹

¹Osaka University, ²Osaka Dental University

Summary

We previously found that the rats fed with low-salt chow since their prenatal period showed abnormal unidirectional growth of mandibula than the rats fed with normal chow. The mandibula plays an important role in masticatory movements. It is thought that sufficient and adequate mastication is required for normal development of jaw bones. And then taste palatability has effects on masticatory movements. Thus, it is seemed that the abnormal mandibular condyle in our previous study was produced by the alterations in the number and intensity of mastication, which are induced by the differences in the palatability between the low-salt and normal chows. Therefore, we aimed to explore the role of salt intake on the growth of jaw bones involving in mastication. The rats fed with low-salt chow just after the weaning period demonstrated smaller size of mandibular bone than control, while their width of mandibular condyle was larger. We also found bigger mandibular condyle width in the rats fed with bitter taste (denatonium benzoate) chow than the rats fed with control chaw or sweet taste (sucralose) chow. These results suggest that lower palatability of low-salt chow induced abnormal development of mandibular condyle.