

令和元年6月24日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11007

研究課題名(和文) 口腔感覚受容機能の維持における亜鉛の役割の解析

研究課題名(英文) Role of zinc on the maintenance of sensory perception in oral region

研究代表者

脇坂 聡 (Wakisaka, Satoshi)

大阪大学・歯学研究科・教授

研究者番号：40158598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：近年味覚異常が増加傾向であり、亜鉛の欠乏が味覚障害を起こすことが知られている。本研究では、低亜鉛飼料で飼育した動物での口腔感覚受容の変化を検討し、感覚受容・伝達機構における亜鉛の役割を検討した。生後3週、7週および21週のラットを低亜鉛飼料で飼育すると、体重増加が有意に低下し、血清中亜鉛濃度の著しい低下、脱毛などの皮膚異常が認められた。この動物では味覚受容、特に苦味に対する忌避が低下し、味覚伝導の中継核である結合腕傍核で苦味に応答する神経の活動が上昇が抑制されていた。この変化は、低亜鉛飼料での飼育を生後3週から行ったほうが、生後7週および21週から行ったよりも重篤であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低亜鉛飼料で飼育した動物において口腔感覚受容機構を検討した結果、味覚受容の異常、特に苦味に対する忌避行動低下が行動学的に明らかになり、また味覚情報の伝達経路においても苦味に応答する神経活動の低下が組織学的に明らかとなった。この食事による味覚障害は正常飼料に戻すことにより回復することが分かった。さらに、低亜鉛の影響は幼弱動物ほど重篤であった。このことは幼若期のバランスの取れた栄養供給が味覚を含めた感覚受容機構の発達や維持に重要なことを示している。

研究成果の概要(英文)：Recently number of patients with taste disorder increases gradually. It is known that zinc deficiency causes taste disorder. In the present study, the effect of zinc on the maintenance of sensory perception in oral regions was examined using experimental animals with dietary-induced zinc deficiency. When animals were fed with low zinc diet, increase in body weight was suppressed, and zinc contents in serum were decreased. These experimental animals showed behavioral abnormality against bitter stimulation. Immunohistochemistry of c-fos indicated the decreased number of neurons in parabranchial nucleus, one of the relay nuclei in gustatory system, response to bitter stimulation. These changes were more apparent in young animals.

研究分野：神経科学

キーワード：感覚異常 亜鉛

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年味覚障害を訴える患者が増加している。一般的には「味覚」といった場合には、味覚受容による味情報以外に、嗅覚や「舌ざわり」や「歯ざわり」といった一般体性感覚情報、さらには視覚、聴覚などの感覚が加わり、これらに加え今までの味覚学習、味覚記憶が統合された感覚である。これらの感覚受容機能の維持には多くの因子が関わっているが、外的因子として栄養状態がある。なかでも必須ミネラルである亜鉛が欠乏すると味覚障害を引き起こす事が知られている。味覚異常の原因を味覚伝導系で考えると、末梢の味覚受容器である味蕾での味刺激の受容の異常、中枢神経での伝導路での異常、高次中枢での他の感覚情報との統合の異常などが考えられる。これらのなかで、最も多いのが亜鉛欠乏による味覚障害である。亜鉛は細胞分化に深く関わることから、亜鉛低下による味細胞の機能障害が原因であると考えられている。しかしながら、亜鉛欠乏は味細胞のみならず、全ての細胞に影響を与えていると推測されるが、一般体性感覚受容に関する亜鉛の役割についてはほとんど検討されていない。

2. 研究の目的

口腔の重要な機能は栄養摂取であり、これは咀嚼から嚥下におよぶ一連の運動により行われる。この調節には口腔からの感覚受容が入力系として深く関わっている。感覚受容の機能維持には多くの因子が関与するが、外的因子として栄養状態があり、なかでも必須ミネラルである亜鉛が重要な役割を果たす。亜鉛欠乏は味覚異常の原因とされているが、ここでの「味覚」は単に味覚神経による味刺激の伝導のみならず、「歯ごたえ」「舌ざわり」などの一般体性感覚などを統合した感覚である。本研究では、低亜鉛飼料により飼育した低亜鉛動物において味覚受容のみならず、味覚と深く関わる嗅覚や口腔内の痛覚、触覚、圧覚などの一般体性感覚受容の変化を組織学的、細胞学的、行動学的に検討し、それらが栄養状態を回復させることにより回復するか否かを明らかにすることにより、口腔感覚受容における亜鉛の役割を解明しようとするものである。

3. 研究の方法

生後3週、7週および21週齢のラットを低亜鉛飼料(亜鉛含有量 0.12mg/100g)で4週間飼育し、これらを低亜鉛動物とする。対照として正常飼料(亜鉛含有量 5.28mg/100g)で4週間ラットを正常動物とし、さらに低亜鉛動物を正常飼料に切り替え、さらに4週間飼育した動物(低亜鉛回復動物)を作成する。これらの動物について摂食量、摂水量、体重を定期的に測定し、また生化学的血液検査を行い、血液中の亜鉛濃度の計測を行う。

これらの動物で、2瓶法あるいはlick counting法による4基本味(塩味、酸味、苦味、甘味)に対する行動変化の検討、舌後方部(有郭乳頭)への味刺激、特に苦味刺激を行った後の味覚中継核である結合腕傍核での神経活動の変化の組織化学的検討、味蕾の大きさ、味蕾構成細胞数および味蕾細胞の細胞型の組織化学的变化の検討、味蕾細胞の細胞周期(PCNA)、アポトーシス(Bax)など細胞分化の変化、嗅覚に関する行動学的検討、口唇部への起炎物質(ホルマリン)投与後の疼痛関連行動(grooming)の変化と三叉神経脊髄路尾側亜核での神経活性の変化の検討を行い、口腔感覚受容における亜鉛の機能を明らかにする。低亜鉛飼料での飼育開始時期によるこれらの変化の相違を検討する。

4. 研究成果

低亜鉛動物では、低亜鉛飼料での飼育開始時期にかかわらず、体重増加が正常動物と比較して有意に低下し、血中の亜鉛濃度の著しい低下、脱毛などの皮膚異常が認められた。これらは既に報告されている重度の亜鉛欠乏に起因する病態であり、本研究での実験モデルとして最適である

事を確認した。低亜鉛回復動物では、正常飼料に切り替えると体重増加も正常動物とほぼ同じに成り、血中亜鉛濃度も回復した。

行動学的検討：2瓶法による嗜好性の変化については、好ましい刺激である甘味では低亜鉛動物と正常動物では明らかな変化は認められなかった。lick counting法による感受性(刺激強度すなわち濃度の弁別)でも同様であった。一方、忌避すべき刺激である苦味では嗜好性の変化、すなわち忌避行動が低下および感受性の低下が認められた。これらの変化は、低亜鉛飼料での飼育開始が早いほど変化が大きかった。また、正常飼料に切り替えると変化は認められなくなった。

味刺激に対する中枢神経系の変化：苦味に対する、味覚伝導の中継核である結合腕傍核での神経活性を検討すると、正常動物において苦味で神経活性が上昇する部位での神経活動が上昇していないことがc-Fosを指標とした免疫組織化学で明らかになり、苦味に対する感受性が低下している可能性が示唆された。この感受性の低下は3週齢から低亜鉛飼料で飼育した場合により顕著に認められた。また、3週齢から低亜鉛飼料で4週間飼育した動物を正常飼料に戻した低亜鉛回復動物では正常動物とほぼ同様になっていた。

味蕾、味細胞における組織化学的検討：低亜鉛動物と正常動物での味蕾での味細胞数に変化は認められなかった。また、味蕾を構成する味細胞の細胞型についてそれぞれのマーカーを指標に検討した結果、低亜鉛動物と正常動物で細胞型の比率に変化は認められなかった。

味蕾細胞の細胞周期に関する検討：味蕾細胞の分化マーカーであるPCNAやアポトーシスのマーカーであるBaxについて検討すると、それらの陽性細胞の比率は低亜鉛動物では正常動物の約2/3に低下していた。味蕾の細胞数に変化がないことから、味蕾細胞の寿命は低亜鉛動物では正常動物の1.5倍になっている可能性が示唆され、このことが味覚異常の原因の一つであると思われる。

嗅覚行動の検討：嗅覚についてピーナツバター餌への到達時間を指標とした行動学的検討を行ったが、低亜鉛動物と正常動物では明らかな差は認められなかった。

炎症性疼痛に関する検討：口唇にフォルマリン投与後の疼痛関連行動の変化をgrooming数の変化で観察すると、正常動物では投与後grooming数は2峰性の変化をするが、低亜鉛動物では最初のgrooming数の上昇のみであった。しかしながらこれらの動物での尾側亜核でのc-Fos陽性ニューロンの数に明らかな変化は認められなかった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kawano A, Honma S, Inui-Yamamoto C, Ito A, Niwa H, Wakisaka S: c-Fos expression in the parabrachial nucleus following intraoral bitter stimulation in the rat with dietary-induced zinc deficiency, Brain Res 1659; 1-7, 2017.

〔学会発表〕(計 4 件)

Wakisaka, S: Mystery of Taste Sensation, In “Ankara-Osaka University Joint Symposium”, June 10, 2015, Ankara, Turkey

Kawano A, Niwa H, Wakisaka S: Zinc deficiency induced reduction of taste cell proliferation and apoptosis in rat circumvallate papillae. 17th International Symposium of Olfaction and Taste, June 5-9, 2016, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.

河野彰代、本間志保、丹羽 均、脇坂 聡：実験的低亜鉛がラットの苦味刺激の受容・伝達に及ぼす影響 大阪大学歯学会第122回例会、2016年7月14日、大阪大学弓倉記念ホール、大阪府吹田市。

Wakisaka S, Kawano A, Shiba Y: Influence of age on taste disorders in the rat with dietary-induced zinc deficiency, FENS Meeting (Forum 2018), July 8, 2018, Berlin, Germany.

6 . 研究組織

(1)研究協力者

研究協力者氏名：河野 彰代

ローマ字氏名：Akiyo Kawano