

平成 30 年 6 月 10 日現在

機関番号：15201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15225

研究課題名(和文)減塩指導への応用を目指した塩味の忌避的反応の個人差の解明

研究課題名(英文)Study of individual variation of aversive response to salty taste

研究代表者

並河 徹(NABIKI, TORU)

島根大学・医学部・教授

研究者番号：50180534

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：減塩は高血圧を予防する上で鍵となるが、塩味覚の個人差の原因が解明出来れば、これをより効果的に進めることができる。本研究では、ヒトにおいて塩味への忌避反応に関する個人差について検討するとともに、高血圧モデルラットであるSHRとその対照ラットのWKYを用いて、食塩嗜好性に関する遺伝的メカニズムの解明をすることを目的とした。ヒトでは、高齢者、喫煙者で高濃度食塩水に対する忌避反応が減弱していることがわかり、それが食塩摂取量と関連することが示唆された。ラットでの検討では、SHRはWKYに比べて食塩水を好むことが確認され、現在この2系統を交配して作成した300匹のラットを用いて遺伝解析を進めている。

研究成果の概要(英文)：Reduction of salt consumption is the most important strategy to prevent hypertension. If genetic mechanisms determining response to salty taste are revealed, we may be able to establish an efficient way to reduce salt consumption in humans. Accordingly, we started to clarify (1) inter-individual difference in aversive response to high salt in humans, and (2) genetic mechanisms of salt preference in rats using a genetically hypertensive rat, SHR, and its control, WKY. We found that age and smoking had strong influence on aversive response to high salt, which showed correlation with salt consumption, through a study on 600 elderlies. We also confirmed that SHR showed greater salt preference than did WKY at a high concentration of salt, which indicated response to salt was, at least partly, determined by genes. We are now performing a genetic analysis using 300 F2 rats constructed between SHR and WKY to identify the gene(s) responsible for this difference between the two rat strains.

研究分野：疾病・予防医学

キーワード：予防医学 減塩 高血圧 食塩嗜好性 食塩摂取量

1. 研究開始当初の背景

本態性高血圧予防のために最も有効性があると考えられている方法のひとつに減塩がある。その重要性については長年言われ続けているものの、実現することは簡単ではない。その大きな要因として、ナトリウムが必須のミネラルであることから、塩味は基本的に好ましいものとして「美味しく」感じるメカニズムが備わっていることにある。この味覚メカニズムの構築には遺伝子がかかわっていることから、塩味の感知とそれを好ましく感じるかどうかについては、遺伝的な背景に基づく個人差がある可能性が高い。実際、高血圧の遺伝的モデルラットである SHR では、対照ラットの WKY に比べて食塩を好んで摂取することが明らかになっている。

2. 研究の目的

本研究では、SHR を用いて塩味を好む、あるいは忌避するメカニズムの解明とそれに関与する遺伝子の同定を試みた。また、ヒトにおいて塩味の忌避的反應の個人差を検査し忌避反應の個人差についてのデータを得る。

3. 研究の方法

1) 8 週令の SHR とその対照ラットである WKY を用いて、塩味、苦味、酸味、甘味、旨味に対する反應を比較した。濃度の異なる塩化ナトリウム (塩味)、キニン (苦味)、カフェイン (苦味)、酢酸 (酸味)、ショ糖 (甘味)、グルタミン酸 (旨味) の溶液を作成し、蒸留水を入れたボトルと上記溶液を入れたボトルの 2 本を与えてどちらを好んで飲むかを溶液と蒸留水の 24 時間消費量を測定することで検討する。実験は 24 時間単位で 3 回 (3 日間) 行い、その平均を結果とした。ボトルの位置は実験日ごとに入れ換え、場所による差がないことを確認した。

2) SHR, WKY を交配して F1 世代を取り、さらに F1 同士を交配して、F2 世代 300 匹を得た。この F2 ラットを用いて、異なる 2 種類の濃度の食塩水を用いて上記と同様の味覚実験を実施し、その後肝組織を採取、DNA 抽出を行って遺伝解析のための準備を行った。

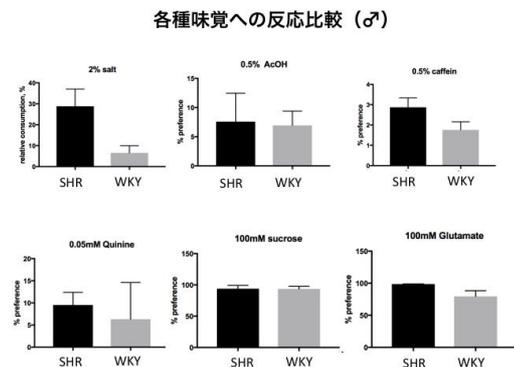
3) ヒトでの忌避反應については、特定健診に参加した住民を対象とし、文章によるインフォームドコンセントを得た後に実施した。方法は 0.25%、0.5%、1%、1.5%、2% の食塩水を用意し、被験者には薄い濃度より少量を口に含んでもらい、これ以上濃い塩味は飲めないと感じた濃度を忌避反應感度とした記録した。また塩分チェックシートを用いて食習慣の調査を行い、加えて随意尿を用いた塩分摂取量の推定を行った。

4. 研究成果

SHR と WKY を用いて 5 種類の味覚について

6 種類の物質で嗜好性反應、忌避反應をみたところ、塩味については SHR と WKY で明確な差がみられ、WKY は殆ど飲まない 2% という高濃度の食塩水でも、SHR は有意に好んで飲むことが明らかとなった。それに対して、苦味 (カフェイン、キニン)、酸味 (酢酸)、甘味 (ショ糖)、旨味 (グルタミン酸) では塩味ほど明確な差は見られなかった (図 1)。このことは、SHR における塩味嗜好性が、塩味特異的なものであることを示している。つまり、SHR は味覚一般が異常なのではなく、塩味への反應のみに異常がみられるということである。

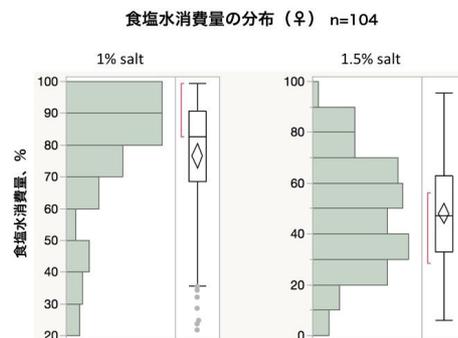
図 1



さらに、食塩水に対する嗜好性が、味覚によるものなのか、あるいは味覚とは独立に必須栄養素としてのナトリウムを欲してのものなのかについて情報を得るため、1 分ごとに水と食塩水のボトルの位置を変えて嗜好性をみる短期嗜好性実験を実施したところ、やはり SHR では高濃度食塩水に対して WKY より高い嗜好性を示すことが明らかとなった (データ未記載)。このことは、やはり SHR の食塩嗜好性には味覚 (あるいはそれによって惹起される反應) の異常が関与することを示唆している。

そこで、方法に述べたとおり、F2 ラットを 300 匹 (196 匹、104 匹) 作成し、これらで 1、1.5% 食塩水への嗜好性を検討した。図 2 に の結果を示す

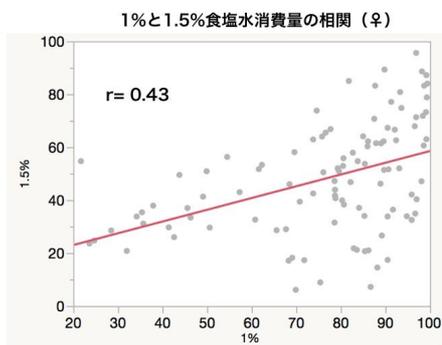
図 2



1%では、食塩水を好む方に高度に歪んだ分布をしめしており、このことは、この濃度での食塩嗜好性が優性遺伝に近い様式をとる事を示唆している。これに対して、1.5%ではより正規分布に近い分布となる。これらから、食塩の濃度によって、その嗜好反応、忌避反応を制御する遺伝子が異なることが推察される。実際、食塩を好む反応と忌避する反応は別の味覚を介して行われているとする報告があり興味深い (Oka Y et al. Nature 2013;494:472)。

1%と1.5%の反応の間の相関をみると、中等度の相関がみられることがわかる (図3)。しかし、その中でも1%食塩水を忌避するF2ラットでの相関はよりよい傾向がみられ (図の左半分) 1%食塩水を好むF2個体で大きくばらついている (図の右半分) のと好対照である。この2つの濃度での反応が別のメカニズムで制御されていることを示す結果と考える。

図3



ヒトを対象とした解析では、特定健診に参加した住民 1,254 人について忌避的反應検査を行った。その結果、63% の人が1.5%の食塩水までで忌避的反應を示した。2%の塩水で忌避的反應示した人が21%、2%以上の塩水に対しても忌避的反應を示さなかった人が16%であった。忌避的反應を示した濃度と塩分摂取量との関連を調べたところ、忌避的反應が1.5%以下、2%、2%超でそれぞれ9.8g/日、9.5g/日、9.7g/日であり有意差を認めなかった。しかし、塩分チェックシートのスコアは忌避的反應濃度と正の相関が認められた。

現在、SHR とWKY の食塩嗜好性の相違の原因となる遺伝子を同定することを目的に、DNA の抽出と SNP マーカーのタイピングを実施しているところである。これによって食塩嗜好性を決める遺伝的素因が明らかになれば、それをヒトに応用することによってより効果的な減塩方法の開発や、食塩摂りすぎになりやすい人をあらかじめ同定して予防を進めることなど、高血圧の予防に大きな寄与をすることが可能になると考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計15件)

- 1) Hamano T, Shiotani Y, Takeda M, Abe T, Sundquist K, Nabika T: Is the Effect of Body Mass Index on Hypertension Modified by the Elevation? A Cross-Sectional Study of Rural Areas in Japan. *Int J Environ Res Public Health*. 査読有, 2017 Sep 7;14(9). pii: E1022. doi:10.3390/ijerph14091022
- 2) Notsu Y, Yano S, Takeda M, Yamasaki M, Isomura M, Nabika T, Nagai A: Association of High-Density Lipoprotein Subclasses with Carotid Intima-Media Thickness: Shimane CoHRE Study. *J Atheroscler*. 査読有, 2018 Jan 1;25(1):42-54. doi:10.5551/jat.38844
- 3) Hamano T, Takeda M, Tominaga K, Sundquist K, Nabika T: Is Accessibility to Dental Care Facilities in Rural Areas Associated with Number of Teeth in Elderly Residents? *Int J Environ Res Public Health*. 査読有, 2017 Mar 21;14(3). pii: E327. doi:10.3390/ijerph14030327
- 4) Kitayuguchi J, Kamada M, Hamano T, Nabika T, Shiwaku K, Kamioka H, Okada S, Mutoh Y: Association between knee pain and gait speed decline in rural Japanese community-dwelling older adults: 1-year prospective cohort study. *Geriatr Gerontol Int*. 査読有, 2016 Jan;16(1):55-64. doi:10.1111/ggi.12432
- 5) Hamano T, Takeda M, Sundquist K, Nabika T: Geographic Elevation, Car Driving, and Depression among Elderly Residents in Rural Areas: The Shimane CoHRE Study. *Int J Environ Res Public Health*. 査読有, 2016 Jul 21;13(5). pii: E738. doi:10.3390/ijerph13070738
- 6) Kohno K, Niihara H, Li X, Hamano T, Nabika T, Shiwaku K, Isomura M, Morita E, Sundquist K, Zöller B: Familial Transmission of Hospital-Treated Varicose Veins in Adoptees: A Swedish Family Study. *J Am Coll Surg*. 査読有, 2016 Sep;223(3):452-60. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2016.06.007
- 7) Wada M, Yano S, Hamano T, Nabika T, Kumakura S: Effect of Serum

- Cholesterol on Insulin Secretory Capacity: Shimane CoHRE Study. PLoS One. 査読有, 2016 Feb 16;11(2):e0149452. doi:10.1371/journal.pone.0149452
- 8) Hamano T, Onoda K, Takeda M, Sundquist K, Yamaguchi S, Nabika T: Geographic Elevation and Cognitive Function among Elderly Residents in Rural Mountainous Areas: Shimane CoHRE Study. Int J Environ Res Public Health. 査読有, 2015 Oct 23;12(10):13365-71. doi:10.3390/ijerph121013365
- 9) Yano S, Nabika T, Nagai A, Hamano T, Yamasaki M, Isomura M, Shiwaku K, Yamaguchi S, Yamaguchi T, Sugimoto T: Interrelationship between glucose metabolism and undercarboxylated osteocalcin: a cross-sectional study in a community-dwelling population. Asia Pac J Clin Nutr. 査読有, 2015;24(3):489-95. doi:10.6133/apjcn.2015.24.4.02
- 10) Hamano T, Li X, Tanito M, Nabika T, Shiwaku K, Sundquist J, Sundquist K: Neighborhood Deprivation and Risk of Age-Related Eye Diseases: A Follow-up Study in Sweden. Ophthalmic Epidemiol. 査読有, 2015 Oct;22(5):308-20. doi:10.3109/09286586.2015.1056537
- 11) Ferdous SI, Kohno K, Hamano T, Takeda M, Yamasaki M, Isomura M, Shiwaku K, Nabika T: Altitudes of residential areas affect salt intake in a rural area in Japan: a Shimane CoHRE Study. Hypertens Res. 査読有, 2015 Dec;38(12):895-8. doi:10.1038/hr.2015.91
- 12) Yamasaki M, Mutombo PB, Iwamoto M, Nogi A, Hashimoto M, Nabika T, Shiwaku K: The interaction of Apolipoprotein A5 gene promoter region T-1131C polymorphism (rs12286037) and lifestyle modification on plasma triglyceride levels in Japanese. Nutr Res Pract. 査読有, 2015 Aug;9(4):379-84. doi:10.4162/nrp.2015.9.4.379
- 13) Isomura M, Wang T, Yamasaki M, Hasan MZ, Shiwaku K, Nabika T: Aldehyde Dehydrogenase Polymorphisms and Blood Pressure Elevation in the Japanese: A Cross-Sectional and a Longitudinal Study over 20 Years in the Shimane CoHRE Study. Dis Markers. 査読なし, 2015;2015:825435. doi:10.1155/2015/825435
- 14) Hamano T, Tominaga K, Takeda M, Sundquist K, Nabika T: Accessible Transportation, Geographic Elevation, and Masticatory Ability Among Elderly Residents of a Rural Area. Int J Environ Res Public Health. 2015 Jun 26;12(7):7199-207. doi:10.3390/ijerph120707199
- 15) Takeda M, Hamano T, Kohno K, Yano S, Shiwaku K, Nabika T: Association Between Geographic Elevation, Bone Status, and Exercise Habits: The Shimane CoHRE Study. Int J Environ Res Public Health. 査読有, 2015 Jun 30;12(7):7392-9. doi:10.3390/ijerph120707392
- 〔学会発表〕(計9件)
- 1) 新谷 薫, 並河 徹: SHRSP/Izmが持つ脳卒中感受性遺伝子の検索~ダブルコンジェニクワットを用いた解析~. 第53回高血圧関連疾患モデル学会学術総会, 平成29年11月24日, 九州大学医学部百年講堂(福岡県福岡市)
- 2) 大原浩貴, 並河 徹: SHRSPの脳卒中自然発症を促進する遺伝性憎悪因子の検索. 第53回高血圧関連疾患モデル学会学術総会, 平成29年11月24日, 九州大学医学部百年講堂(福岡県福岡市)
- 3) Odongoo Batbayar, Minoru Isomura, Toru Nabika: Association of Cognitive Impairment with Apolipoprotein E Gene Polymorphism: a Cross-sectional Study in Japanese. 第40回日本高血圧学会総会, 2017年10月21日, 愛媛県県民文化会館ひめぎんホール(愛媛県松山市)
- 4) 磯村 実, 並河 徹: 摂取量を避けたい感じる塩分濃度の個人差と塩分摂取量との関連. 第40回日本高血圧学会総会, 2017年10月21日, 愛媛県県民文化会館ひめぎんホール(愛媛県松山市)
- 5) 大原浩貴, 並河 徹: 早期に脳卒中を自然発症するSHRSPコンジェニクワットの病態生理学的性質とその原因遺伝子の検索. 第40回日本高血圧学会総会, 松山市, 2017年10月20日, 愛媛県県民文化会館ひめぎんホール(愛媛県松山市)
- 6) 磯村 実, 並河 徹: 2年間の健診データから得られた塩分摂取量と食習慣の地域差. 第39回日本高血圧学会総会, 2016年9月30日, 仙台国際センター(宮城県仙台市)
- 7) 新谷 薫, 松本真悟, ザヒッド ハッサン,

並河 徹:食塩感受性高血圧は皮膚の水分量とNa⁺, Cl⁻含有量 に関係するか? : SHRSP, SHR, WKY を用いた比較検討. 第63回日本実験動物学会総会, 2016年5月18日, ミューザ川崎シンフォニーホール (神奈川県川崎市)

8) 新谷 薫, 松本真悟, 川上浩平, 並河 徹: 食塩感受性高血圧は皮膚の水分量とNa⁺, Cl⁻濃度に依存するか: SHRSP/Izm と SHR/Izm, WKY/Izm の比較検討. 第51回高血圧関連疾患モデル学会学術総会, 2015年10月30日, 千里ライフサイエンスセンター (大阪府豊中市)

9) 磯村 実, 並河 徹: 高血圧の遺伝環境因子としての塩味味覚誘因反応と忌避反応. 第38回日本高血圧学会総会, 2015年10月11日, 愛媛県県民文化会館ひめぎんホール (愛媛県松山市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

並河 徹 (Nabika Toru)

島根大学・医学部・教授

研究者番号: 50180534