

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780126

研究課題名(和文)母ラットの成長期からの潜在的亜鉛欠乏が摂食・睡眠および仔の代謝・行動に及ぼす影響

研究課題名(英文)Effects of marginal zinc deficiency on food intake, sleep, and metabolism in maternal rats.

研究代表者

後藤 知子(GOTO, TOMOKO)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：00342783

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：成長期からの潜在的亜鉛欠乏が摂食・睡眠に及ぼす影響を検討するため、亜鉛欠乏食・低亜鉛食・亜鉛添加食給餌ラットの糖溶液嗜好性、摂食調節ペプチド分泌を追跡した。亜鉛欠乏食群、低亜鉛食群では亜鉛添加食群に比べ、スクロース溶液よりマルトース溶液・マルトオリゴ糖溶液・グルコース溶液を嗜好した。飼育4日目の血漿中・脳液髄液中オレキシン濃度は、亜鉛欠乏食群で有意に低下し、オレキシン分泌の低下が示唆された。また、妊娠期・授乳期の潜在的亜鉛欠乏が仔の生活習慣性代謝に及ぼす影響を検討した。その結果、妊娠期の潜在的亜鉛欠乏は仔ラットで、インスリン感受性上昇を経て、インスリン抵抗性を引き起こす可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：In order to investigate the effect of marginal zinc deficiency on feeding and sleeping behaviors in growing rats, we monitored the preference for different kinds of sugar solutions, and the secretion of feeding-regulatory peptides in rats. Compared with zinc-sufficient rats, zinc-deficient and low-zinc rats showed marked preference for maltose-, maltooligosaccharide-, or glucose-containing solutions than one containing sucrose. On day 4, orexin concentrations in plasma and cerebral spinal fluid of zinc-deficient rats significantly decreased compared with control rats. We also investigated the effect of marginal zinc deficiency in pregnant and lactating rats on sugar metabolism and blood pressures of offsprings. We found that marginal zinc deficiency in pregnant rats may cause insulin resistance of offsprings through temporary increase of insulin sensitivity in the fetal stage.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：潜在的亜鉛欠乏 ラット 摂食 糖代謝

## 1. 研究開始当初の背景

近年、我が国の若年女性において、やせ願望による食事制限や摂食障害（神経性食欲不振症など）が増加している。摂食障害患者の多くには、摂食障害のみならず、睡眠障害など睡眠サイクルの乱れもみられ懸念される。睡眠薬などによる治療が長期的に与える影響には不明な点も多く、さらに妊娠中の服薬に至っては、胎児や母乳に及ぼす影響を考慮すると特段の注意が必要であり多くの制限が生じる。したがって、摂食障害や睡眠障害を引き起こしにくい食生活の改善が期待される。一方、我が国では近年、偏った食生活や食事制限、服薬などにより、潜在的な亜鉛欠乏が増えているといわれている。必須微量元素のひとつである亜鉛が不足すると、食欲不振、成長遅延、味覚障害などが起こることが知られている。申請者のラットを用いた検討でも、亜鉛欠乏食飼育 3~4 日目で摂食量が著しく減少することを確認した。また、亜鉛欠乏でみられる食欲不振には、視床下部でのオレキシン（摂食促進ペプチド）mRNA 発現量の低下が関与することを報告した（J Nutr 139, 611-616, 2009）。オレキシンは、摂食中枢として知られる視床下部外側野周辺に局在する神経に発現し、睡眠・覚醒に関与するモノアミン作動性神経・コリン作動性神経の起始核（青斑核、縫線核など）、室傍核などに特に密に投射し、摂食促進のみならず睡眠・覚醒の維持にも重要な役割を果たす。オレキシンをラットに脳室内投与すると、摂食量増加のほか、自発運動量の増加、覚醒レベルの上昇、交感神経系の活性化などが認められた（日本臨床 61, 212-217, 2003）。覚醒状態から突然 REM (rapid eye movement) 睡眠に入るなどの睡眠障害を主症状とするナルコレプシー患者の脳では、オレキシン含有ニューロン数は健康な人の脳の 10% 以下であることも報告されている（Neuron 27, 469-474, 2000）。オレキシンによる摂食調節と睡眠・覚醒の調節には関連があると考えられる。したがって亜鉛欠乏は、睡眠サイクルにも影響を及ぼしている可能性が考えられる。臨床的にも、不眠や精神状態の不安定を訴える患者において血清亜鉛濃度の低下が認められた（亜鉛欠乏に関する研究会報告書 2007）。また、ネパールとサンジバルの生後 6~18 か月の乳幼児における調査でも、亜鉛欠乏による成長遅延小児で、夜間に睡眠時間が低下すると報告された（Early Human Development 84, 389-398, 2008）。しかし、潜在的亜鉛欠乏が睡眠サイクルに影響を及ぼすか否か、その作用機構、および潜在的亜鉛欠乏における食欲不振と睡眠との関連について詳細に検討した報告はない。また、亜鉛欠乏食給餌ラットにおける自発行動量の推移を長期にわたり計測した研究はほとんどない。さらに、若年齢から食事制限を経験した女性が出産した子どもでは、睡眠・行動や生活習慣性代謝が変化する可能性も懸念

される。

## 2. 研究の目的

本研究では、亜鉛欠乏によりヒトと同様の食欲不振などの症状を呈するラットをモデルとし、母ラットの成長期からの潜在的亜鉛欠乏が、摂食・睡眠に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。また、母ラットの成長期からの潜在的亜鉛欠乏が、出生した仔ラットの生活習慣性代謝に及ぼす影響を明らかにすることも目的とし、成長期から妊娠期・授乳期にわたり潜在的亜鉛欠乏食を給餌し検討する予定であった。しかし、成長期からラットに亜鉛欠乏食を給餌すると、暗期自発行動量が著しく低下し、出生率低下、喰殺、育児放棄などが認められ、目的達成のための検討が難しいことが示された。そこで、「成長期からの潜在的亜鉛欠乏が摂食・睡眠に及ぼす影響」と「妊娠期・授乳期の潜在的亜鉛欠乏が仔の生活習慣性代謝に及ぼす影響」に分け、以下の項目を検討することとした。

(1) 成長期からの潜在的亜鉛欠乏が摂食・睡眠に及ぼす影響

糖溶液嗜好性に及ぼす影響：ラットに亜鉛欠乏食を給餌すると摂食量が著しく減少するが、その際、タンパク質や脂質より炭水化物の摂取量が減少することが報告されている（J Nutr 125, 2874-2879, 1995）。しかし、亜鉛欠乏ラットにおける糖溶液嗜好性を経日的に追跡した検討は未だない。そこで、成長期からの潜在的亜鉛欠乏が、糖溶液嗜好性に及ぼす影響を明らかにするため、二瓶選択嗜好実験にて経日的に追跡した。

摂食調節ペプチドの分泌に及ぼす影響：亜鉛欠乏ラットでみられる摂食量減少には、視床下部でのオレキシン mRNA 発現量低下が関与することが示されたが、これら摂食調節ペプチドの分泌量変化は未だ検討されていない。そこで、潜在的亜鉛欠乏による摂食量減少の作用機構をさらに探るため、実験食給餌 4 日目までの血漿中・脳脊髄液中の摂食調節ペプチド濃度変化を追跡した。

自発行動量に及ぼす影響：オレキシンは、摂食促進のみならず睡眠・覚醒の維持にも重要である。したがって、潜在的亜鉛欠乏では自発行動量が低下する可能性も考えらる。そこで、亜鉛欠乏食給餌ラットの自発行動量を経日的に追跡することとした。

(2) 妊娠期・授乳期の潜在的亜鉛欠乏が仔の生活習慣性代謝に及ぼす影響

授乳期の潜在的亜鉛欠乏が仔の糖代謝・血圧に及ぼす影響：授乳期の潜在的亜鉛欠乏が、仔ラットの糖代謝・血圧に及ぼす影響を経日的に追跡した。

妊娠期の潜在的亜鉛欠乏が仔の糖代謝・血圧に及ぼす影響：妊娠期の潜在的亜鉛欠乏が、仔ラットの糖代謝・血圧に及ぼす影響を経日的に追跡した。

### 3. 研究の方法

(1) 成長期からの潜在的亜鉛欠乏が摂食・睡眠に及ぼす影響

SD系雄ラット4週齢に、亜鉛欠乏食(亜鉛含量2.1 mg/kg diet)、または低亜鉛食(4.1 mg/kg diet)、または亜鉛添加食(33.7 mg/kg diet)を給餌した。実験群は、亜鉛欠乏食を自由摂取させた亜鉛欠乏食群(Zn-Def)、低亜鉛食を自由摂取させた低亜鉛食群(Low-Zn)、亜鉛添加食を自由摂取させた亜鉛添加食群(Zn-Suf)、Zn-Defが前日に食下した量と同量の亜鉛添加食を与えたペアフェド群(Pair-fed)の4群とした。

糖溶液嗜好性に及ぼす影響：実験食飼育11日間、2種類の糖溶液を同時に呈示する二瓶選択嗜好実験に供し、糖溶液の嗜好性を経日的に追跡した。用いた糖溶液は、スクロース溶液、マルトース溶液、マルトオリゴ糖溶液(日食フジオリゴ450P、マルトテトラオースを50%含む)、グルコース溶液、フルクトース溶液とした。

摂食調節ペプチドの分泌に及ぼす影響：実験食飼育0、1、2、3、4日目に採血し、摂食促進ペプチド(活性型グレリン、オレキシン、ニューロペプチドY)、摂食抑制ペプチド(インスリン、レプチン、コレシストキニン)の血漿中濃度をELISA法にて測定した。また、SD系雄ラット5週齢(Zn-Def群、Pair-fed群)を用い、ペプチドダイアリス法にて飼育4日目暗期(活動期)の脳脊髄液(視床下部外側野)中オレキシン濃度をELISA法にて測定し、経時的に追跡した。

自発行動量に及ぼす影響：実験群は2群(Zn-Def群、Zn-Suf群)とし、各実験食にて20日間飼育した。ケージ内での自発行動量を自発運動量測定装置(スーパーメックス)にて経時的に計測し解析した。

(2) 妊娠期・授乳期の潜在的亜鉛欠乏が仔の生活習慣性代謝に及ぼす影響

授乳期の潜在的亜鉛欠乏が仔の糖代謝・血圧に及ぼす影響：妊娠16日齢のSD系雌ラットを購入し、出産まで亜鉛添加食(33.7 mg/kg diet)を給餌した。出産後の授乳期3週間は低亜鉛食(4.1 mg/kg diet)または亜鉛添加食を与えた。実験群は2群とし、授乳期に亜鉛添加食を給餌したSSS群、授乳期に低亜鉛食を給餌したSLS群とした。離乳後は亜鉛添加食を給餌し、18週齢まで糖代謝、血圧を経日的に追跡した。

妊娠期の潜在的亜鉛欠乏が仔の糖代謝・血圧に及ぼす影響：妊娠1日齢のSD系雌ラットを購入し、妊娠期の3週間は低亜鉛食(8.0 mg/kg diet)または亜鉛添加食を給餌した。出産後の授乳期3週間は亜鉛添加食を与えた。実験群は2群とし、妊娠期に亜鉛添加食を給餌したSSS群、妊娠期に低亜鉛食を給餌したLSS群とした。出産後は亜鉛添加食を給餌し、14週齢まで糖代謝、血圧を経日的に追跡した。

### 4. 研究成果

(1) 成長期からの潜在的亜鉛欠乏が摂食・睡眠に及ぼす影響

糖溶液嗜好性に及ぼす影響：マルトース溶液とスクロース溶液を選択摂取させた結果、Zn-Suf群はマルトース溶液とスクロース溶液を同程度摂取したが、Zn-Def群、Low-Zn群はマルトース溶液を嗜好し続けた。マルトオリゴ糖溶液とスクロース溶液を選択摂取させた結果、Zn-Suf群は、実験食給餌直後はマルトオリゴ糖溶液を嗜好したが、次第に嗜好率が低下し、スクロース溶液と摂水量が同程度となった。Zn-Def群はオリゴ糖溶液を嗜好し続けた。また、Zn-Def群ではZn-Suf群と比べて、グルコース摂水量が有意に高値となった。したがって、潜在的亜鉛欠乏ラットでは、スクロース溶液より、マルトース溶液、マルトオリゴ糖溶液、グルコース溶液といった、グルコースを多く含む糖を嗜好することが示唆された。

摂食調節ペプチドの分泌に及ぼす影響：摂食抑制作用を有するインスリン、レプチン、コレシストキニンの血漿中濃度は、群間で差は認められなかった。摂食促進作用を有するグレリンの血漿中濃度は、Pair-fed群と比べてZn-Def群で低下傾向を示した。グレリンの下流で働くオレキシンの血漿中濃度は、飼育4日目のZn-Def群で有意に低下した。Zn-Def群の血漿中ニューロペプチドY濃度は、飼育4日目で低下傾向を示した。飼育4日目暗期の脳脊髄液中オレキシン濃度を経時的に追跡した結果、Pair-fed群に比べてZn-Def群で有意に低下していた。したがって、潜在的亜鉛欠乏ラットでは、オレキシン分泌が低下している可能性が考えられた。また、Zn-Def群における摂食量減少には、摂食促進ペプチドのオレキシンの分泌低下が関与している可能性が示された。

自発行動量に及ぼす影響：摂食量は、Zn-Def群で実験食飼育4日目に著しく低下した。暗期自発行動量は、Zn-Suf群では飼育期間を通して一定の値を示したが、Zn-Def群では飼育4日目に有意に増加した。したがって、亜鉛欠乏食飼育4日目で認められた摂食量の減少は、暗期自発行動量の低下によるものではなく、むしろ、亜鉛欠乏食より好ましい飼料を探すための探索行動が亢進している可能性が考えられる。一方、亜鉛欠乏食飼育12日目の暗期自発行動量は、Zn-Suf群に比べて有意に低下し、その後、飼育20日目まで有意な低値を示した。明期自発行動量は、両群で同程度であり、飼育期間を通して一定の値を示した。

(2) 妊娠期・授乳期の潜在的亜鉛欠乏が仔の生活習慣性代謝に及ぼす影響

授乳期の潜在的亜鉛欠乏が仔の糖代謝・血圧に及ぼす影響：血糖値、インスリン分泌、血圧(収縮期、拡張期)に群間で差は認められなかった。

妊娠期の潜在的亜鉛欠乏が仔の糖代謝・血

圧に及ぼす影響：離乳後の仔ラットにおいて、SSS群に比べてLSS群で摂食量と体重が増加した。LSS群では、8週齢の血漿レプチン濃度がSSS群に比べて有意に低下していた。したがって、LSS群で認められた摂食量増加にレプチン分泌の低下が関与している可能性が考えられた。また、10週齢におけるITTと11週齢におけるOGTTの結果から、10~11週齢のLSS群ではインスリン感受性が上昇していることが観察された。13週齢におけるITTと14週齢におけるOGTTの結果から、13~14週齢のLSS群ではインスリン抵抗性の発症が示唆された。したがって、妊娠期の潜在的亜鉛欠乏は、成育直後の一時的なインスリン感受性の上昇を経て、インスリン抵抗性が上昇し、生活習慣性代謝に影響を及ぼすことが考えられた。

血圧については、11週齢のLSS群5匹中2匹で、収縮期血圧の上昇傾向は認められたが、2群間で有意な差は得られなかった。

#### 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 12 件)

後藤知子、住友将洋、白川仁、駒井三千夫、亜鉛欠乏食給餌ラットにおける摂食および自発行動量の解析、日本味と匂学会誌、査読有、20巻、2013、343-344

小林陽太郎、後藤知子、白川仁、Bruce Bryant、宮澤利男、駒井三千夫、ラット味神経を用いた新規味修飾物質に関する研究、日本味と匂学会誌、査読有、20巻、2013、261-262

Giriwono PE, Shirakawa H, Ohsaki Y, Hata S, Kuriyama H, Sato S, Goto T, Komai M. Dietary supplementation with geranylgeraniol suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation via inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B activation in rats. *European Journal of Nutrition*, 査読有, 52, 2013, 1191-1199

小松裕介、後藤知子、白川仁、駒井三千夫、亜鉛欠乏食給餌ラットの摂食量減少期における摂食調節ペプチドの変化、日本味と匂学会誌、査読有、19巻、2012、387-388

後藤知子、白川仁、駒井三千夫、インスリン、グルカゴン分泌における亜鉛の関与、ビタミン、査読有、86巻、2012、87-89

後藤知子、鮫島次郎、白川仁、駒井三千夫、食餌中亜鉛が2型糖尿病モデルGKラットの摂食量とインスリン分泌に及ぼす影響、日本味と匂学会誌、査読有、18巻、2011、325-326

#### 〔学会発表〕(計 30 件)

今野美帆、後藤知子、白川仁、駒井三千夫、亜鉛欠乏がラットの糖溶液嗜好性に及ぼす影響、第25回日本微量元素学会学術集会、2014年7月3日(発表確定)、岡山市

後藤知子、住友将洋、白川仁、駒井三千夫、亜鉛欠乏食給餌ラットにおける摂食および自発行動量の解析、日本味と匂学会第47回大会、2013年9月6日、仙台市

後藤知子、住友将洋、白川仁、駒井三千夫、亜鉛欠乏食給餌ラットにおける自発行動量の解析、第24回日本微量元素学会学術集会、2013年6月30日、大阪市

後藤知子、住友将洋、白川仁、駒井三千夫、ラットにおける食餌中亜鉛シグナルによる摂食量の調節機構の解析、日本農芸化学会東北支部第146回大会、2011年10月8日、山形市

後藤知子、鮫島次郎、白川仁、駒井三千夫、食餌中亜鉛が2型糖尿病モデルGKラットの摂食量とインスリン分泌に及ぼす影響、日本味と匂学会第45回大会、2011年10月6日、金沢市

後藤知子、住友将洋、白川仁、駒井三千夫、亜鉛欠乏食給餌ラットにおける摂食リズム発現機構の解析、第22回日本微量元素学会学術集会、2011年7月1日、京都市

後藤知子、白川仁、駒井三千夫、長期間の亜鉛摂取が2型糖尿病モデルGKラットの糖代謝に及ぼす影響、第65回日本栄養・食糧学会大会、2011年5月14日、東京

#### 〔図書〕(計 6 件)

後藤知子(木村修一、古野純典 翻訳監修)、建帛社、最新栄養学[第10版](Present knowledge in nutrition tenth edition 訳書)34章 亜鉛、2014、463-479

白川仁、後藤知子、仲川清隆(上野川修一、清水俊雄、清水誠、鈴木英毅、武田英二 編)、丸善出版株式会社、機能性食品の作用と安全性百科、5章 循環系に作用する成分 血圧、血中脂質、血流などとの関係 ビタミンK、2012、280-280

後藤知子(呉 繁夫、廣野治子 編)、医歯薬出版株式会社、子どもの食と栄養 理論と演習・実習 第2版 第6章 幼児期の栄養と食生活、2011、79-86

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 知子 (GOTO TOMOKO)  
東北大学・大学院農学研究科・助教  
研究者番号：00342783

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：