

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：33703

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26861563

研究課題名(和文)微量栄養素の栄養状態が味細胞における味覚受容調節分子の発現に及ぼす影響について

研究課題名(英文) Effects of micronutritional conditions on the expressions of taste receptors and related downstream elements in taste cells

研究代表者

安尾 敏明 (Yasuo, Toshiaki)

朝日大学・歯学部・助教

研究者番号：30608469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ビタミンC(VC)欠乏の末梢味覚器への影響を調べることである。結果：VC欠乏により、有機酸や高濃度食塩に対する味覚神経応答が減少すること、酸や高濃度食塩の受容味細胞に発現する遺伝子(Gad1とCar4)の発現が低下するが、舌前方部の味蕾数は変化しないこと、クエン酸に対する忌避性が低下することを明らかにした。また、味細胞にNa依存性VC輸送体遺伝子が発現する可能性を示した。以上の結果から、VC欠乏時における酸味の忌避性の低下や味覚神経応答の低下は、酸味及び塩味受容味細胞の遺伝子発現の低下によって生じている可能性が考えられ、VC輸送機序が味蕾に存在するという新しい情報が提供された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to examine the effects of vitamin C (VC) deficiency on peripheral taste organ. The results were as follows: The magnitudes of taste nerve responses to some organic acids and high concentrations (>100mM) of NaCl (high Na) in vitamin C deficient (VC-def) rats were smaller than those in non-deficient (ND) rats. Gene expression level of Gad1 and Car4, markers for acid and/or high Na responsive taste cells, decreased in VC-def rats. There was no difference in the number of taste buds on the anterior part of tongue between VC-def and ND rats. The behavioral experiments show that the rejection of citric acid during VC deficiency was decreased. The sodium-dependent VC transporter gene was detected in taste cells of these rats. The behavioral and neural changes shown in this study may be due to down-expression of gene in high Na and sour responsive taste cells. This study also provide important new information about the presence of VC transport system in taste bud.

研究分野：口腔生理学

キーワード：味覚 ビタミンC 欠乏 味細胞 茸状乳頭 鼓索神経 微量栄養素 末梢味覚器

1. 研究開始当初の背景

研究代表者はこれまでに、ビタミンなどの微量栄養素を欠乏させた動物が、当該物質をどのように検知し、充足させているのかに興味を持ち、行動学的及び神経科学的研究を行ってきた。その過程で、ラットは味覚としてビタミンC(以下、VC)を感知し、VC欠乏時には、VCに対する嗜好性を増加させ、健康維持に必要な量を摂取すること、VC及び塩味、酸味や苦味物質に対する鼓索神経応答が減少すること、飲水量と尿量が減少すること(安尾ら、2012、2013、2014、2015)を研究代表者らは報告し、微量栄養素欠乏時に、末梢味覚器で一部の味覚受容機構が特異的に変化している可能性を示してきたが、その原因はまだ明らかにできていない。これまでに、Arginine vasopressin (AVP)、アルドステロン(Aldo)やアンジオテンシン(Ang)が味細胞に作用し、塩味応答を特異的に変化させること(Gilbertson et al., 1993; Lin et al., 1999; Shigemura et al., 2013)、亜鉛欠乏動物では、血中Aldo濃度が増加し、食塩に対して高嗜好性を示すこと(勝川ら、2005)が報告されていることから、微量栄養素の欠乏は、味細胞での内分泌系の調節機構と関係している可能性が考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、微量栄養素欠乏が味細胞における味覚の受容・情報伝達機構、特に内分泌調節機構に影響を及ぼす可能性があるのかどうかを明らかにし、微量栄養素の選択摂取調節機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

実験動物として Osteogenic Disorder Shionogi (ODS)/ShiJcl-od/od 6 週齢雄ラットを用いた。全ての動物は個別のケージにてVC欠乏飼料(AIN-93G 固形、日本クレア社製)を自由摂取させて飼育した。実験開始まで離乳後のラットには10mM VC水溶液を自由摂取させた。以下の(1)~(3)の実験では、上記ラットを、14-35日間蒸留水を自由摂取させた群(VC欠乏群)と、10mM VC水溶液を自由摂取させた群(非欠乏群)に分けた。

(1) 鼓索神経応答解析

VC欠乏群(n=6)と非欠乏群(n=7)各々のラットに3種混合麻酔薬(塩酸メドミジン1.875ml+ミダゾラム2ml+酒石酸ブトルファノール2.5ml+生理食塩水18.625ml)を腹腔内投与(0.5ml/100g体重)後、気管カニューレを装着し、通法に従い左側鼓索神経積分応答(時定数0.3秒)を記録した。舌に約0.1ml/秒の流速で、0.1mM-100mMクエン酸、0.1mM-100mM酢酸及び0.1mM-100mM酒石酸3mM-1000mM塩化ナトリウム水溶液及びこれら塩化ナトリウム水溶液に30µMアミロライドを添加した溶液を約30秒間刺激し、洗浄には蒸留水を用いた。有意差検定にはTwo-way ANOVAを用い、[濃度×群]で

主効果を認めた場合は、post hoc testとしてTukeyのHSD法にて下位検定を行った。

(2) 茸状乳頭味蕾数解析

VC欠乏群(n=5)と非欠乏群(n=6)各々のラットを安楽死させ、舌を摘出した。Tyrode溶液内で茸状乳頭味蕾を含む舌上皮下にエラストナーゼを注入し、室温で10-15分間インキュベートした。その後ピンセットを用いて舌上皮を剥ぎ取り、シリコンコートした培養皿にピン止めし、Tyrode溶液で数回洗浄し、写真を撮影後、剥いだ舌上皮の表面積を計測し、味蕾数をカウントして、各ラットの単位面積当たりの味蕾数を算出することで両群を比較した。有意差検定にはt検定を用いた。

(3) 味細胞における味覚関連分子及びホルモン受容体の遺伝子発現解析

VC欠乏群(n=7)と非欠乏群(n=6)各々のラットの舌上皮を、上記(2)と同様の方法にて剥ぎ取り、剥離した舌上皮をCa<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-free-tyrode液にて15-30分間室温で処理し、茸状乳頭味蕾細胞を単離後、チューブに回収した。その後、PureLink™ DNase(Invitrogen)にてDNase処理するとともに、PureLink® RNA Mini Kit(Life Technologies)にてtotal RNAを抽出し、SuperScript™ VILO™ cDNA Synthesis Kit(Invitrogen)にて逆転写し、cDNAを精製した。Nanodrops™により、各サンプルの濃度を測定し、濃度を一定に調整後、遺伝子特異的プライマー(表1)を用いて、PCRを行った。Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(Gapdh)のプライマーは日本遺伝子研究所から購入した。その後、電気泳動を行い、DNAを検出した。得られたバンドの輝度をImage Jにて各々測定し、数値化した。Gapdhは内部標準遺伝子として使用し、「ターゲット遺伝子/内部標準遺伝子」にて評価を行い、両群の各々の遺伝子のmRNA発現量を比較解析した。有意差検定にはt検定を用いた。

Genes	Accession No.	Forward	Reverse	Product size	Position
Actb	NM_031144.2	CCCGCGAGTACAACCTTCT	CGTCATCCATGGCGAAT	72bp	20-91
Scn5fa	NM_031548.2	ACTGCTGTGCACCCCTTAACTCTT	GTGATGGGTCGACGCT	71bp	834-904
Slic1a3	NM_019225.1	AGTGCAGCCACTGAGTTCAA	TCCCGTCCCTCCCATCT	91bp	451-542
Pib2	NM_053478.1	ATCCAGGCAATGGAAAAGC	AAGCCCGCATTCACCT	100bp	3425-3524
Tas1r1	NM_053305.1	TTCCCTCTGACAGTCTGT	CATGGCCGTTGAAGCT	103bp	109-211
Tas1r3	NM_130818.1	ATGTATTGGCCAGGCAACC	ACCYGGCCATCTTGACCT	85bp	1474-1538
Trpm5	NM_00191898.1	TCAGCAGAGGACAGGTTATGG	GACTAGCAGGAAAGGACAGG	84bp	630-693
Gna3	NM_173139.1	GATGCAGAACTGTGAAGTTGC	TCTTGTGAATGATCTCAATGTT	88bp	201-288
Card	NM_019174.3	GGGAAGTAAAGAACCAACCAACT	CAGGTGTAACGTATGGCCCTG	107bp	349-455
Phd2f1	NM_001106352.1	GACCTGGTGGTCACTTGTCT	CTTCCAGGGTTCGGAATACA	84bp	1333-1396
Ncam1	NM_031521.1	AGTGCAGCCACTGAGTTCAA	TCCCGTCCCTCCCATCT	82bp	2003-2084
Gad1	NM_017607.1	CCATGGATGCACGAGAAA	CTTCCAGGCTATTGTCCTTT	68bp	288-355
Gad2	NM_012953.1	TGCAGTCTCCACGCAAC	CTTGCAGAAATGCGAGAGTG	71bp	341-411
Slic6a13	NM_133623.1	CCCATATCTGAGGTTGCTGAA	ATCACACAGCTCCGAGGGTA	88bp	1161-1228
Gabrb1	NM_183326.2	TGCTTTCACGAGGATTTTGA	TCACATTCAGTTACACGCTCC	86bp	341-426
Gabrb1	NM_031028.3	TCCGGAACGGATATGACAC	CCCATTTCACGGGCTCAA	75bp	462-536
Gabrb2	NM_031802.1	AAGACCTTTGAACACTCTGCAC	CCAAAGGCAGTTGTGTAGCC	68bp	1786-1853
Avpr1a	NM_053019.2	CGCACCTGTGAAGTGAACCTTT	TGGAAGGGTTTTCGAACTG	127bp	1121-1247
Avpr1b	NM_017205.2	ATCGTGCCTGGCCATCATG	TGGTAAAGCCACATGGTA	109bp	1012-1120
Avpr2	NM_019136.1	ACCCTTCTTCTCGTGAG	AGCAGCATGACACACAAA	84bp	855-938
Hlrp6	NM_134375.3	TCATGAAACCGGCTGAAAG	CATTGCTTCACAGATGAC	80bp	2098-2177
Hrc1	NM_012578.2	GGCCGGTCAGTGTTTTCTAA	AGGCAGAGCTGGAGAGGT	109bp	1223-1332
Agtr1a	NM_030985.4	CACCCGATCACCGATCAC	CAGCCATTTATACCACTCTCA	110bp	54-163
Agtr1b	NM_031009.2	GACACACACAGCCCTTCCAG	GCTCTGACACATTTAAATGAC	113bp	31-143
Slic3a1	NM_017315.2	CAAGGCTCTGAAACTACCTCTATGAA	GCTGAGATCTCCACTCAGGTC	91bp	1814-1904
Slic3a2	NM_017316.2	AGCCCATGGTTMAGGTTTC	GAGCCAGCTGACAGATC	87bp	1275-1341

表1 本研究で設計し、使用したプライマー

(4) 行動応答解析(48時間二瓶選択法)

ラット全8匹を個別のケージにて飼育し、

実験開始までは10mM VC水溶液を自由摂取させた。その後、以下のスケジュールで実験を行うとともに、毎日の飲水量を測定した。  
実験スケジュール:

- 1-2 日目: 蒸留水を呈示した。
- 3-4 日目: 3mM クエン酸水溶液と蒸留水を一瓶ずつ計二瓶で呈示した。
- 5-6 日目: 10mM VC水溶液と蒸留水を一瓶ずつ計二瓶で呈示した。
- 7-31 日目: 25 日間蒸留水を呈示した。(VC 欠乏状態に移行する。)
- 32-35 日目: 3mM クエン酸水溶液と蒸留水を一瓶ずつ計二瓶で呈示した。
- 36-45 日目: 10mM VC水溶液と蒸留水を一瓶ずつ計二瓶で呈示した。
- 46-47 日目: 蒸留水を呈示した。
- 48-49 日目: 3mM クエン酸水溶液と蒸留水を一瓶ずつ計二瓶で呈示した。
- 50-51 日目: 10mM VC水溶液と蒸留水を一瓶ずつ計二瓶で呈示した。

48 時間二瓶法(各水溶液と蒸留水)により、各水溶液に対する嗜好性を調べた。データは、嗜好率(=各水溶液摂取量÷総摂取量×100)として処理した。途中、呈示位置による偏好を防ぐため 24 時間目に左右の瓶の位置を入れ替えた。有意差検定には、Two-way ANOVA を用い、[実験日×群]で主効果を認められた場合は、post hoc test として Tukey の HSD 法にて下位検定を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 鼓索神経応答解析

塩味の経路には、少なくともアミロライド感受性 (AS) 受容機構とアミロライド非感受性 (AI) 受容機構の 2 種類が存在すること (Ninomiya, 1996) が報告されている。本研究では、VC 欠乏によって生じた NaCl 応答の減少がこれらの経路に影響しているのかどうかを明らかにするために、両群ラットにおけるアミロライドを用いた塩味の鼓索神経応答解析を行った。Two-way ANOVA の結果、両群間に有意な主効果が認められた (図 1)。このことは、両群間で AS・AI 成分の割合に違いがあることを示しており、今後も解析を続けたい。

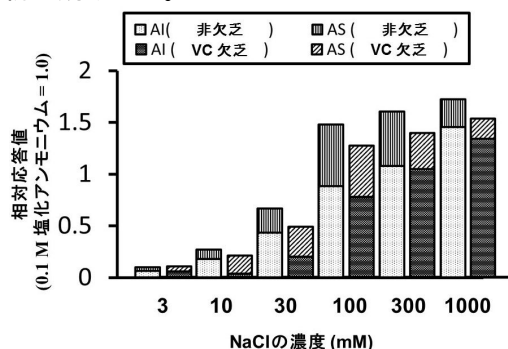


図 1 VC 欠乏ラット及び非欠乏ラットにおけるアミロライドを用いた鼓索神経応答解析 (AS: アミロライド感受性成分及び AI: アミロライド非感受性成分)

次に、VC 欠乏が VC 以外の有機酸に対する応答にも影響を与えているのかどうかを明らかにするために、クエン酸、酢酸及び酒石酸に対する同様の解析を行った。その結果、VC 欠乏群の鼓索神経では、非欠乏群と比べ、各有機酸に対する応答が減少しており、両群間で主効果を認められた。下位検定では、10mM クエン酸 ( $p < 0.01$ )、酢酸 (30mM  $p < 0.01$ , 100mM  $p < 0.001$ ) 及び酒石酸 (10mM  $p < 0.01$ ) において有意差が認められた (図 2)。以上の結果から、VC 欠乏は酸味及び一部の塩味の末梢味覚器の経路に影響を与える可能性が示唆された。今後も解析を続けたい。

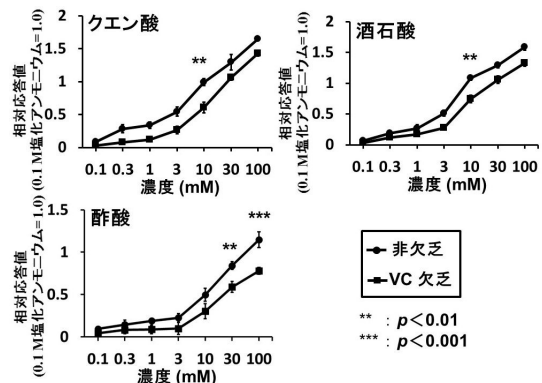


図 2 VC 欠乏ラットと非欠乏ラットのクエン酸、酢酸及び酒石酸に対する鼓索神経応答解析 (平均値 ± S.E., \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$  Tukey HSD)

次に、これら鼓索神経での応答変化の原因が味細胞に存在するのかどうかを明らかにするために、(2)及び(3)の実験を遂行した。

##### (2) 茸状乳頭味蕾数解析

VC 欠乏群の単位面積当たりの味蕾数は、 $0.87 \pm 0.12$  個/mm<sup>2</sup> で、非欠乏群では  $1.01 \pm 0.18$  個/mm<sup>2</sup> で、両群間に有意差は認められなかった (図 3)。以上の結果から、VC 欠乏状態になっても、茸状乳頭における味蕾数に変化はない可能性が示唆された。

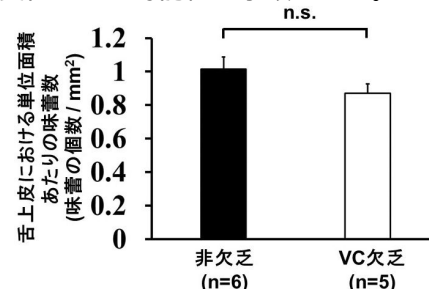


図 3 VC 欠乏ラットと非欠乏ラットの単位面積当たりの茸状乳頭味蕾数の比較 (平均値 ± S.E. n.s.: 有意差なし Student's *t* test)

##### (3) 味細胞における味覚関連分子及びホルモン受容体の遺伝子発現解析

これまでの鼓索神経応答解析の結果、100 mM 以上の NaCl、20mM QHCl、HCl や VC を含む有機酸に対する応答が VC 欠乏時に低下していたこと (安尾ら、2013) から、VC 欠乏では、酸味受容味細胞と考えられている

型細胞や塩味受容味細胞において何らかの変化が起きている可能性が推察された。塩味受容味細胞には AS のある細胞とない細胞が存在すること (Chandrashekar *et al.*, 2010; Yoshida *et al.*, 2009) taste receptor, type 2 受容体 (T2R) phospholipase C, beta 2 (PLC $\beta$ 2) と transient receptor potential channel, subfamily M, member 5 (TRPM5) 経路を持つ苦味受容味細胞や Carbonic anhydrase 4 を持つ酸味受容味細胞が高濃度 (>300mM) の NaCl に応答すること、epithelial sodium channel (ENaC) を持つ味細胞が低濃度 (<100mM) の NaCl に応答すること (Oka *et al.*, 2013) が報告されている。本研究では、VC 欠乏時にどの型の味細胞に変化があるのかを明らかにするため、各型の味細胞のマーカーである味覚受容関連分子 [I 型細胞: glial high affinity glutamate transporter (*Slc1a3*)、II 型細胞: 甘味受容体の taste receptor, type 1, member 3 (*Tas1r3*)、甘味、苦味の細胞内情報伝達に関与する G-蛋白質の  $\alpha$ -gustducin (*Gnat3*)、PLC $\beta$ 2 (*Plcb2*)、TRPM5 (*Trpm5*) 及び taste receptor, type 1, member 1 (*Tas1r1*)、III 型細胞: 酸味受容体の polycystic kidney disease 2-like 1 (*Pkd2l1*)、NK2 homeobox 2 (*Nkx2-2*)、neural cell adhesion molecule 1 (*Ncam1*) や Carbonic anhydrase 4 (*Car4*)] を解析した。また、これまでに味細胞に GABA 及びその関連分子が発現し、味細胞同士の細胞間コミュニケーションが行われ、一部の味覚情報伝達を抑制している可能性 (Obata *et al.*, 1997; 中村ら 2008; 安尾ら 2009, 2010; Cao *et al.*, 2009; Starostik *et al.*, 2010) が報告されているため、GABA 合成酵素の GAD67 (*Gad1*) と GAD65 (*Gad2*)、GABA<sub>A</sub> 受容体  $\alpha$ 1 サブユニット (*Gabra1*)、GABA<sub>B</sub> 受容体 (*Gabbr1*, *Gabbr2*) や GABA transporter 2 (*Slc6a13*) の解析も行った。その結果、VC 欠乏群では、非欠乏群と比べ、*Car4*, *Gad1*, *Gnat3*, *Trpm5* 及び *Tas1r1* の輝度は減少傾向にあったが、*Tas1r3*, *Plcb2*, *Pkd2l1*, *Nkx2-2*, *Slc1a3*, *Ncam1*, *Gabbr1* 及び *Slc6a13* の輝度に差はなかった。また、*Gabra1*, *Gabbr2* は検出されなかった (図 4)。以上の結果から、VC 欠乏により I 型細胞 (*Car4*, *Gad1*) 及び III 型細胞 (*Gnat3*, *Trpm5*, *Tas1r1*) の遺伝子発現が低下した可能性が示唆された。

次に Ang (Shigemura *et al.*, 2013) Aldo (Herness, 1992; Lin *et al.*, 1999) や AVP (Gilbertson *et al.*, 1993) に発現が制御されている塩味受容体の ENaC (*Scnn1a*)、Ang 受容体 AT1 (*Agtr1a*, *Agtr1b*)、AVP 受容体 (*Avpr1a*, *Avpr1b* や *Avpr2*) や AVP と結合し、腎の塩水のバランス調節の制御に関与する NLR family, pyrin domain containing 6 (*Nlrp6*) の解析を行った。その結果、*Agtr1a*, *Agtr1b*, *Avpr1a*, *Avpr1b* は検出されず、*Scnn1a*, *Avpr2* 及び *Nlrp6* は

検出されたが、両群間に差はなかった (図 4)。近年、味細胞には *Avpr1a*, *Avpr1b* は発現せず、*Avpr2* が発現していること (Jie Qian *et al.*, 2017) が報告されたが、本研究と同じ結果となっていた。以上の結果から、VC 欠乏は、味細胞における *Avpr2*, *Scnn1a* 及び *Nlrp6* の発現量に影響を与えない可能性が示唆された。

ヒトの官能検査で、血中のコルチゾールとアスコルビン酸濃度が増加した場合、口腔内でのアスコルビン酸の味覚閾値が減少すること (LOH and Wilson 1973)、マウスの *Tas1r3* 発現型細胞においてグルココルチコイド受容体が発現し、ストレス負荷により、その遺伝子 (*Nr3c1*) の発現が増加すること (Parker *et al.*, 2014) が報告されている。そこで、本研究では、この *Nr3c1* についても解析を行った。その結果、両群間に有意差はなかった。以上の結果から、VC 欠乏により、*Nr3c1* の発現量が変化する可能性は低いことが示唆された。

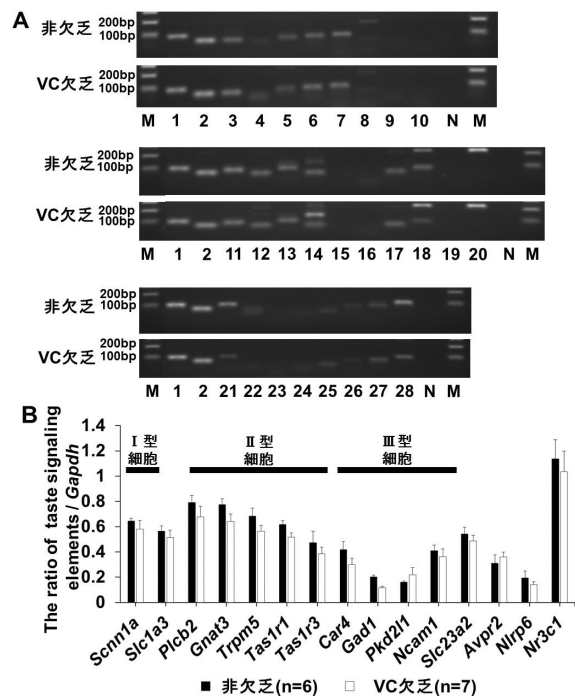


図 4 VC 欠乏ラットと非欠乏ラットの味覚関連分子、ホルモン受容体及び VC トランスポーターの mRNA 発現量の比較。A は電気泳動の結果 [1: *Gapdh*, 2: *Actb*, 3: *Scnn1a*, 4: *Pkd2l1*, 5: *Ncam1*, 6: *Slc1a3*, 7: *Plcb2*, 8: *Nlrp6*, 9: *Avpr1a*, 10: *Avpr1b*, 11: *Gnat3*, 12: *Trpm5*, 13: *Tas1r1*, 14: *Tas1r3*, 15: *Nkx2.2*, 16: *Slc23a1*, 17: *Slc23a2*, 18: *Avpr2*, 19: *Agtr1a*, 20: *Agtr1b*, 21: *Car4*, 22: *Gad1*, 23: *Gad2*, 24: *Slc6a13*, 25: *Gabra1*, 26: *Gabbr1*, 27: *Gabbr2*, 28: *Nr3c1*, N: Negative control (精製水), M: 100bp marker]。B は *Gapdh* により補正した各遺伝子の発現量  $\pm$  S.E.を示す。

さらに本研究では、空腸上皮粘膜に存在し VC の吸収に関与する VC 特異的な輸送分子

sodium-dependent vitamin C transporter (SVCT-1 と SVCT-2) についても同様の解析を行った。その結果、SVCT1 (*Slc23a1*) は検出されなかったが、SVCT2 (*Slc23a2*) は検出され、両群間で有意差はなかった。空腸では SVCT1 は上皮側、SVCT2 は基底側に発現すること (Liang et al., 2001) が報告されていることを考慮すると、本研究において、*Slc23a2* のみ検出されたのは、上皮を含まない味細胞で解析を行ったためかもしれない。

(4) 行動応答解析 (48 時間二瓶選択法)

VC 欠乏時に VC の嗜好性が上昇する理由が酸味にあるのかどうか明らかにするために、鼓索神経応答で同程度の応答を示す 10mM VC 水溶液と 3mM クエン酸 (CA) 水溶液を用いて解析を行った (図 5 及び表 2)。

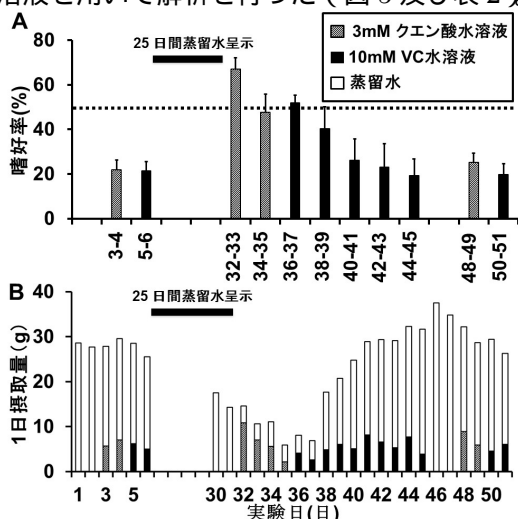


図 5 VC 欠乏前後 (3-6 日目と 32-37 日目) 及び欠乏回復後 (48-51 日目) での 3mM クエン酸水溶液及び 10mM VC 水溶液に対する嗜好率 ± S.E. の変化 (A) と 1 日の各溶液及び蒸留水の平均摂取量 (B)

A	CAの嗜好率	CAの摂取量	DWの摂取量	総摂取量 (CA+DW)
欠乏前 (3-4 日目)-VC 欠乏 (32-33 日目)	↑***	n.s.	↓***	↓***
VC 欠乏 (32-33 日目)-回復後 (48-49 日目)	↓***	n.s.	↑***	↑***
欠乏前 (3-4 日目)-回復後 (48-49 日目)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

B	VCの嗜好率	VCの摂取量	DWの摂取量	総摂取量 (VC+DW)
欠乏前 (5-6 日目)-VC 欠乏 (36-37 日目)	↑***	n.s.	↓***	↓***
VC 欠乏 (36-37 日目)-回復後 (50-51 日目)	↓***	n.s.	↑***	↑***
欠乏前 (5-6 日目)-回復後 (50-51 日目)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

\*\*\*:  $p < 0.001$ , n.s.: 有意差無し

表 2 VC 欠乏前、VC 欠乏及び VC 欠乏回復後における ODS/ShiJcl-od/od ラットの 48 時間二瓶法 [A: 3mM クエン酸水溶液 (CA) と蒸留水 (DW), B: 10mM VC 水溶液 (VC) と蒸留水 (DW)] の結果 (\*\*\*) :  $p < 0.001$  n.s.: 有意差なし Tukey HSD )

その結果、欠乏前の 3mM CA 水溶液に対する嗜好率 (3-4 日目) と 10mM VC 水溶液に対する嗜好率 (5-6 日目) は約 20% で、両者の間に有意差はなかった ( $p > 0.05$ ) が、欠乏後、それらの嗜好率は欠乏前と比べ有意に上昇し、約 50% となり (共に  $p < 0.001$ )、CA 水溶液に対する嗜好率 (32-33 日目) と 10mM VC 水溶液に対する嗜好率 (36-37 日目) との間に有意差はなかった ( $p > 0.05$ )。10mM VC 水溶液及び蒸留水の 10 日間自由摂取 (36-45 日目) 後、3mM CA 水溶液に対する嗜好率は約 20% (48-49 日目) となり、10mM VC 水溶液に対する嗜好率 (50-51 日目) と有意差はなく ( $p > 0.05$ )、欠乏前 (3-4 日目) の嗜好率とも有意差はなかった ( $p > 0.05$ )。10mM VC 水溶液に対する嗜好率も欠乏前 (5-6 日目) と欠乏回復後 (50-51 日目) で有意差はなかった ( $p > 0.05$ )。VC 欠乏時 (CA: 32-33 日目、VC: 36-37 日目) において、総摂取量及び蒸留水 (DW) 摂取量は欠乏前 (CA: 3-4 日目、VC: 5-6 日目) よりも有意に減少していた ( $p < 0.001$ ) が、VC の自由摂取 (36-45 日目) 後、それらは有意に増加し ( $p < 0.001$ )、欠乏前 (CA: 3-4 日目、VC: 5-6 日目) と有意差はなかった ( $p > 0.05$ )。以上の結果から、VC 欠乏時に、VC とともに、CA に対する嗜好性が上昇 (忌避性が低下) することが明らかとなり、VC 欠乏時に VC に対する嗜好性が上昇する理由は、酸味に対する嗜好性が上昇 (忌避性が低下) するためである可能性が示唆された。しかし、この結果には、CA 摂取による食後効果も含まれているため、今後、短時間二瓶法を用いた解析も行う予定である。

本研究の結果から、VC 欠乏によって、茸状乳頭の味蕾数や味細胞におけるホルモン受容体の遺伝子発現量は変化しない可能性、高濃度の食塩及び酸味物質の受容を担う味細胞に存在する一部の遺伝子発現量が低下することで、酸味に対する神経応答が低下し、酸味の忌避性が低下する可能性が示唆された。これらの変化が VC 欠乏時に VC を摂取しやすくさせている原因の一つであると考えられた。また、味細胞において VC 特異的輸送経路が存在する可能性も示された。

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 1 件)

安尾 敏明、諏訪部 武、碓 哲崇、ビタミン C 欠乏動物における様々な濃度のビタミン C 水溶液に対する嗜好性、日本味と匂学会誌第 21 巻 第 3 号 275-276、2014 年 12 月

[学会発表] (計 12 件)

安尾 敏明、諏訪部 武、碓 哲崇、ビタミン C 欠乏動物における様々な濃度のビタミン C 水溶液に対する嗜好性、日本

味と匂学会第 48 回大会、2014 年 10 月 2 日～4 日、静岡市清水文化会館（静岡）  
Toshiaki Yasuo, Takeshi Suwabe, Noritaka Sako, Behavioral and neural responses to vitamin C solutions in the vitamin C deficient rats、The 12th International symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception、2014 年 11 月 2 日～3 日、Kyushu University(Fukuoka)  
安尾 敏明、ビタミンの栄養状態は末梢における味覚受容機構及び味覚を介した選択摂取行動に影響を与えるのか？、第 2 回味覚健康科学シンポジウム 遺伝子から行動まで、2015 年 2 月 28 日～3 月 1 日、なないろの風 会議室（湯布院）  
Toshiaki Yasuo, Takeshi Suwabe, Noritaka Sako, Behavioral and neural mechanisms to ingest vitamin C in vitamin C-deficient rats、第 92 回日本生理学会大会、2015 年 03 月 21 日～23 日、神戸コンベンションセンター（神戸）  
Toshiaki Yasuo, Takeshi Suwabe, Noritaka Sako、The behavioral responses to various concentration of vitamin C solutions in vitamin C deficient rats、第 57 回歯科基礎医学学会 学術大会総会、2015 年 9 月 11 日～13 日、朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター（新潟）  
Toshiaki Yasuo, Takeshi Suwabe, Noritaka Sako, Behavioral and neural studies in the micronutrients-deficient rodents、日本味と匂学会第 49 回大会、2015 年 9 月 24 日～26 日、じゅうろくプラザ（岐阜）  
Toshiaki Yasuo, Takeshi Suwabe, Noritaka Sako, Does sodium chloride (NaCl) affect ingestive behavior for vitamin C in vitamin C deficient rats?、日本味と匂学会第 49 回大会、2015 年 9 月 24 日～26 日、じゅうろくプラザ（岐阜）  
安尾 敏明、諏訪部 武、裕 哲崇、ビタミン C 欠乏が塩味及び酸味の末梢味覚受容情報伝達機構に及ぼす影響、第 62 回中部日本生理学会、2015 年 11 月 13 日～14 日、富山大学（富山）  
Toshiaki Yasuo, Takeshi Suwabe, Noritaka Sako, Vitamin C deficiency affects ingestive behavior and taste nerve responses in rats、International Symposium on Olfaction and Taste JASTS 50th annual Meeting、2016 年 6 月 5 日～9 日、パシフィコ横浜（横浜）  
安尾 敏明、裕 哲崇、微量栄養素を動物はどのように過不足なく摂取できているのか？ 第 1 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会、2016 年 6 月 17 日～18 日、岡崎カンファレンスセンター（岡崎）

Toshiaki Yasuo, Takeshi Suwabe, Noritaka Sako, The effect of vitamin C deficiency on the chorda tympani nerve responses to salt and sour tastants、第 58 回歯科基礎医学学会学術大会総会、2015 年 8 月 24 日～26 日、札幌コンベンションセンター（札幌）  
Toshiaki Yasuo, Tomoki Yamamura, Takeshi Suwabe, Noritaka Sako, The effect of vitamin C deficiency on the peripheral taste organ、第 95 回日本生理学会大会、2018 年 03 月 28 日～30 日、サンポートホール高松（高松）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

安尾 敏明 (YASUO TOSHIAKI)  
朝日大学・歯学部・助教  
研究者番号：30608469

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )