

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 1 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592194

研究課題名（和文） オリゴ糖の亜鉛吸収促進作用を利用した味覚障害の治療法の開発

研究課題名（英文） The development of a new treatment for taste impairment using difructose as an enhancer of zinc absorption.

研究代表者

武田 憲昭（TAKEDA NORIAKI）

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：30206982

研究成果の概要（和文）： ACE 活性比を用いた新しい亜鉛栄養状態の評価法を開発し、味覚障害患者と健常成人の亜鉛栄養状態を ACE 活性比で検討した。その結果、血清亜鉛値が低下している味覚障害患者だけでなく、血清亜鉛値が正常範囲の味覚障害患者でも ACE 活性比が上昇していた。この結果は、亜鉛欠乏が味覚障害の主な原因であることを示唆している。しかし、味覚障害患者の亜鉛摂取量は、健常成人のそれと差を認めず、味覚障害患者では消化管からの亜鉛の吸収障害が疑われた。次に、亜鉛補充療法に亜鉛の吸収を促進するオリゴ糖を添加し、味覚障害に対する効果を検討し、有効性を認めた。オリゴ糖を添加した亜鉛補充療法は、難治性の味覚障害患者の新しい治療法になる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： We developed the ratio of apo/holo activities of angiotensin converting enzyme (ACR ratio) in the serum and examined patients with taste impairment and healthy subjects for their zinc nutrition using ACE ration as an index. In addition to a significant increase in ACE ratio in taste impairment patients with low concentrations of zinc in serum, ACE ratio was also significant elevated in taste impairment patients with normal value of zinc. These finding indicate that zinc deficiency is a predominant factor underlying taste impairment even when zinc concentrations are within normal ranges in serum. But, there were no differences in dietary zinc intake between patients and age-adjusted healthy subjects, suggesting that patients with taste impairment have malabsorption of dietary zinc in the gastrointestinal tract. We then examined the effects of zinc supplementation with difructose that enhances the absorption of zinc on taste impairment and showed its favorable efficacy. It is suggested that zinc supplementation with difructose will be a new treatment in patients with refractory taste impairment.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：耳鼻咽喉科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：味覚障害、亜鉛欠乏、ACE 活性比、亜鉛補充療法、オリゴ糖

1. 研究開始当初の背景

味覚障害が亜鉛欠乏症の症状の1つであることはよく知られている。また、血清亜鉛値が正常な味覚障害患者であっても亜鉛補充療法により味覚が改善することから、味覚障害患者のなかには潜在的な亜鉛欠乏性味覚障害患者がかなり存在していると考えられてきた。この臨床的事実はさらに、血清亜鉛値が亜鉛の栄養状態の評価として適当ではないことも示唆している。

2. 研究の目的

我々は、亜鉛要求性酵素であるアンギオテンシン変換酵素 (ACE) を用いた新しい亜鉛栄養状態の評価法を開発した。本研究では、ACE 活性比で評価した味覚障害患者の亜鉛栄養状態、ACE 活性比で評価した味覚障害患者への亜鉛補充療法、味覚障害患者の亜鉛摂取量、健常者の亜鉛摂取量、オリゴ糖の亜鉛吸収促進作用を利用した味覚障害の治療法の開発について検討した。

3. 研究の方法

最初に血液の ACE 酵素活性を測定すると、holl-ACE の活性を測定することになる。次に、in vitro で血液に十分量の無機亜鉛を添加してから ACE 酵素活性を測定すると、apo-ACE にも亜鉛が結合して holl-ACE となり、より高い酵素活性が測定される。亜鉛添加後の酵素活性から亜鉛添加前の酵素活性を引くと、はじめに存在していた apo-ACE の活性を知ることができる。holl-ACE に対する apo-ACE の比が ACE 活性比である。ACE 活性比が高いほど、亜鉛が欠乏していると考えられ、亜鉛栄養状態の評価に用いることができる。

4. 研究成果

(1) HPLC 法による ACE 活性法測定法の

開発

10 週令のマウスを、亜鉛欠乏下で飼育し、欠乏 2 日、5 日、9 日の ACE 活性比と血清亜鉛濃度を測定した。その結果、血清亜鉛濃度はコントロールと比較して、亜鉛欠乏 9 日目で有意に低下した。一方、ACE 活性比はコントロールと比較して、亜鉛欠乏 5 日目で増加傾向を認め、9 日目で有意に増加した。これらの結果から、ACE 活性比が血清亜鉛濃度と比較して、亜鉛栄養状態の鋭敏な指標であることが示唆された。

(2) ACE 活性比で評価した味覚障害患者の亜鉛栄養状態

味覚障害を引き起こす明らかな原因がなく、血清亜鉛濃度が異常低値を示したいわゆる「亜鉛欠乏性」味覚障害患者と血清亜鉛濃度が正常範囲内であった「特発性」味覚障害患者、および味覚障害のない健常成人の亜鉛亜鉛栄養状態を ACE 活性比で評価した。血清亜鉛値は三菱 BCL で測定し、正常範囲は $64 \mu\text{g/dl}$ である。ACE 活性比は健常成人の平均値+2SD から 2.3%以下と設定した。ACE 活性比で亜鉛栄養状態を評価すると、いわゆる「亜鉛欠乏性」味覚障害患者のみならず、「特発性」味覚障害患者も ACE 活性比の異常高値を示した。この結果は、血清亜鉛値が異常低値いわゆる「亜鉛欠乏性」味覚障害患者だけでなく、血清亜鉛値で正常範囲の「特発性」味覚障害患者も、亜鉛欠乏が原因の味覚障害であることを意味している。

(3) ACE 活性比で評価した味覚障害患者への亜鉛補充療法

亜鉛欠乏による味覚障害の治療には、亜鉛補充療法が行われる。一般に、亜鉛欠乏症の治療には、1 日に亜鉛 50mg の投与が必要と

されている。現在、臨床で亜鉛補充療法に用いられているのは、胃潰瘍に保険適応のある polaprezinc である。Polaprezinc の用量は 1 日 150mg であり、この中に亜鉛 33.0mg を含むが、亜鉛欠乏症の治療には投与量が不足している。現在、polaprezinc を味覚障害に適応を拡大し、1 日用量を 300mg まで増量するための比較試験が進行中である。Polaprezinc による亜鉛補充療法を、いわゆる「亜鉛欠乏性」味覚障害患者と「特発性」味覚障害患者に行った。両群とも、VAS で評価した味覚障害の自覚症状が改善し、ともに亜鉛欠乏が原因の味覚障害であることを意味している。さらに、いわゆる「亜鉛欠乏性」味覚障害患者と「特発性」味覚障害患者とも、亜鉛補充療法後の ACE 活性比と自覚症状の改善との間に有意な相関を認めた。しかし、両群とも血清亜鉛値と自覚症状の間には相関を認めなかった。

(4) 味覚障害患者の亜鉛摂取量

亜鉛欠乏性味覚障害患者の亜鉛欠乏の原因として、亜鉛の摂取不足、薬物や食品添加物による亜鉛のキレート作用、腸管からの亜鉛の吸収障害など考えられる。薬物など明らかな亜鉛欠乏を引き起こす原因のない亜鉛欠乏性味覚障害患者の場合は、従来から亜鉛の摂取不足が亜鉛欠乏の原因と考えられてきた。しかし、これを裏付けるデータはなかった。我々は特発性亜鉛欠乏性味覚障害患者および年齢をマッチさせた健常成人に対して、管理栄養士による食物摂取頻度調査を行い、亜鉛の摂取量の調査を行った。ここで言う特発性亜鉛欠乏性味覚障害とは、明らかな亜鉛欠乏を引き起こす原因がなく ACE 活性比が異常高値を示す味覚欠乏性味覚障害であり、従来の血清亜鉛値による診断では、血清亜鉛値が異常低値を示すいわゆる「亜鉛

欠乏性」味覚障害と血清亜鉛値が正常範囲である「特発性」味覚障害の両者を含む。

その結果、特発性亜鉛欠乏性味覚障害患者の亜鉛摂取量は約 4.6mg/1000kcal/日であり、厚生労働省が発表している第 6 次日本人の栄養所要量における亜鉛の 1 日経口必要量の約 75%であった。しかし、年齢をマッチさせた健常成人でも亜鉛の摂取量は約 4.5mg/1000kcal/日であり、第 6 次日本人の栄養所要量における亜鉛の 1 日経口必要量の約 74%であった。20 歳代、30 歳代、40 歳代の健常成人の亜鉛摂取量も 4.2mg~4.4mg であり、第 6 次日本人の栄養所要量における亜鉛の 1 日経口必要量の 74%~85%であった。すなわち我々の検討からは、特発性亜鉛欠乏性味覚障害患者の亜鉛の摂取量は健常成人との間に差を認めず、亜鉛摂取不足による亜鉛欠乏である可能性は否定的であった。

特発性亜鉛欠乏性味覚障害患者では、摂取した何らかの栄養素が亜鉛の吸収を阻害している可能性が考えられる。しかし、我々の栄養摂取頻度調査ではタンパク質、脂質、糖質、カリウム、カルシウム、マグネシウム、リン、鉄、銅ならびに食物繊維の摂取量も調査しており、特発性亜鉛欠乏性味覚障害患者と健常成人との間に摂取量に差を認めなかった。ただし、栄養調査では評価できていない食物添加物がある種の薬物のように亜鉛をキレートし、亜鉛欠乏性味覚障害を引き起こしている可能性は否定できない。

経口摂取された亜鉛は、回腸を中心とした腸管から吸収される。腸管にポリープが多発する Cronkhite-Canada 症候群では、腸管からの亜鉛吸収障害により味覚異常などの亜鉛欠乏症が発症する[16,17]。しかし、特発性亜鉛欠乏性味覚異常患者に、腸管の病変が合併しているわけではない。腸管からのミネラルの吸収には、intracellular pathway と

paracellular pathway がある。前者は ATP 依存性の能動的輸送系であり、亜鉛については ZIP や CDF などの transporter が報告されている。一方、後者はミネラルの濃度勾配により受動的に細胞間の tight junction の透過性に依存して拡散移動する系である。特発性亜鉛欠乏性味覚障害患者では亜鉛のトランスポーターまたは tight junction の調節障害により、腸管よりの亜鉛の吸収が阻害されている可能性が考えられる。

また、我々の検討からは、年代によらず健康成人の亜鉛摂取量は、厚生労働省の第 6 次日本人の栄養所要量における亜鉛の 1 日経口必要量の約 75% 程度である。この結果は、厚生省の勧める亜鉛の必要量が高く設定されている可能性を示唆している。事実、厚生労働省の日本人の食事摂取基準 2005 年版では、亜鉛の推奨量が約 80% に引き下げられていることも、我々の推定を支持するものであると考えられた。厚生労働省の第 6 次日本人の栄養所要量の亜鉛摂取基準は、静脈栄養患者で血清亜鉛値を正常範囲内に維持する亜鉛投与量に関するデータから算出されたため、健康人の亜鉛の必要量と差が生じた可能性が考えられる。一方、厚生労働省の日本人の食事摂取基準 2005 年版の亜鉛摂取基準は、英米の成人男性の亜鉛出納試験のデータと日本人女性の尿中排泄量のデータから算出されている。

(5) 健康者の亜鉛摂取量

健康な日本人における食品群別の亜鉛摂取量を調査し、亜鉛摂取量が亜鉛栄養状態に与える影響を ACE 活性比および血清亜鉛濃度を指標として検討した。2005 年の長野県東御市の住民健康診査受診者のうち、同意の得られた 24 歳～82 歳の健康な男女 109 名（男性 45 名、女性 64 名）を対象とし、食事

調査を行って亜鉛摂取量を食品群 33 グループに分類して算出した。亜鉛栄養状態の指標として、採集した血液の血清亜鉛濃度と ACE 活性比を測定した。その結果、健康日本人の総亜鉛摂取量は $9.49 \pm 3.11 \text{ mg/day}$ (平均値 ± 標準偏差) であった。食品群別の亜鉛摂取量は、米・米加工品から最も多く $1.97 \pm 0.90 \text{ mg/day}$ 、次に牛乳・乳製品、大豆・加工品、畜肉、生魚介類の順に多かった。ACE 活性比と食品群別の亜鉛摂取量との関連を調べたところ、米・米加工品および貝類からの亜鉛摂取量と ACE 活性比との間に有意な負の相関がみられた（米・米加工品： $R = -0.190$, $p < 0.05$ 、貝類： $R = -0.207$, $p < 0.05$ ）。米・米加工品の亜鉛含有量は比較的低いが、日本人が米を主食として摂取しているため、亜鉛の主要な供給食品となっていると考えられた。一方、貝類は摂取量が少ないが、亜鉛含有量が高いため、亜鉛栄養状態に影響を与えていると考えられた。また、米・米加工品と小麦・加工品の摂取量には負の相関がみられた。パンを主食としている日本人は、小麦が亜鉛の主要な供給食品になっている可能性がある。さらに、その他の豆・加工品からの亜鉛摂取量と ACE 活性比との間には有意な正の相関がみられた（ $R = -0.333$, $p < 0.001$ ）。豆類はフィチン酸を多く含んでおり、フィチン酸は腸管からの亜鉛の吸収を阻害することが報告されていることから、日本人が比較的多く摂取する豆類は亜鉛栄養状態に悪い影響を与える可能性がある。一方、血清亜鉛濃度と食品群別の亜鉛摂取量との関連を調べたが、魚介加工品以外に有意な相関がみられなかった。最後に、ACE 活性比と血清亜鉛濃度との間には有意な負の相関がみられた（ $R = -0.549$, $p < 0.01$ ）。しかし、総亜鉛摂取量と ACE 活性比および血清亜鉛濃度との間には有意な相関がみられなかった。これらの

結果から、健常日本人は主食である米が亜鉛の主要な供給食品であり、貝は摂取量が少ないものの亜鉛の含量が多く、亜鉛栄養状態に影響を与えている。日本人が比較的多く摂取する豆は亜鉛の吸収を阻害するフィチン酸を多く含んでおり、亜鉛栄養状態に悪い影響を与える可能性がある。また、ACE 活性比は亜鉛栄養状態の評価において血清亜鉛濃度よりも有用な指標であることが示唆された。

(6) オリゴ糖の亜鉛吸収促進作用を利用した味覚障害の治療法の開発

我々が開発した ACE 活性比により味覚障害患者の亜鉛栄養状態を評価したところ、血清亜鉛値が低下している患者だけでなく、血清亜鉛濃度が正常の患者でも亜鉛欠乏が味覚障害の原因であることがほとんどであることが分かった。しかし、味覚障害患者の亜鉛摂取量は健常人と比較して低下していなかった。このことから、味覚障害患者の亜鉛欠乏が亜鉛の吸収障害である可能性が考えられた。亜鉛の吸収障害の原因として、亜鉛の吸収を阻害する食品の存在の可能性が考えられた。そこで、亜鉛補充療法で効果がない味覚障害患者には、亜鉛と同時に亜鉛の吸収を促進するオリゴ糖を投与することで、難治性味覚障害を改善できる可能性が考えられる。

そこで、プロマックで治療しても改善の認められない味覚障害患者を対象として、プロマックは2包(1包75mg)を分2で30日間投与し、同時にオリゴ糖2包(1包1g)を分2と一緒に服用する治療法の効果を検討した。その結果、約35%が自覚的に味覚の改善があった。オリゴ糖を併用した亜鉛補充療法は、難治性味覚障害患者の新しい治療法となる可能性が考えられた。

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4件)

- ① N. Sarukura, S. Takai, S. Ikemoto, T. Korin, Y. Ueda, Y. Kitamura, B. Kalubi, S. Yamamoto and N. Takeda: Effects of dietary zinc deprivation on zinc concentration and ratio of apo/holo-activities of angiotensin converting enzyme in serum of mice. *Auris Nasus Larynx*, 2011, in press. 査読有
- ② N. Sarukura, M. Kogirima, S. Takai, S. Ikemoto, T. Korin, Y. Ueda, Y. Kitamura, B. Kalubi, S. Yamamoto and N. Takeda: Dietary intake and dietary effects on zinc nutrition in healthy Japanese living in the central area of Japan. *J. Med. Invest.* 58: 203-209, 2011. 査読有
- ③ T. Takaoka, N. Sarukura, C. Ueda, Y. Kitamura, B. Kalubi, N. Toda, K. Abe, S. Yamamoto and N. Takeda: Effects of zinc supplementation on serum zinc concentration and ratio of apo/holo-activities of angiotensin converting enzyme in patients with taste impairment. *Auris Nasus Larynx* 37: 190-194, 2010. 査読有
DOI:10.1016/j.anl.2009.07.003
- ④ M. Sakagami, M. Ikeda, H. Tomita, A. Ikui, T. Aiba, N. Takeda, A. Inokuchi, Y. Kurono, M. Nakashima, Y. Sibasaki and O. Yotsuya: A Zinc Containing Compound, Polaprezinc, is Effective for Patients with Taste Disorders: Randomized, Double-Blind,

Placebo-Controlled, Multi-Center Study.
Acta Otolaryngol.129: 1115-1120, 2009.
査読有
DOI:10.1080/00016480802552550

〔学会発表〕（計 2 件）

- ①武田憲昭：栄養素センサー研究の新展開：
長寿健康社会のための栄養薬学：味覚受容
と味覚障害. 日本薬学会第 131 年会 シン
ポジウム、2011.3.29、ツインメッセ静岡(静
岡)
- ②武田憲昭：亜鉛酵素・トランスポーター研
究の最前線：亜鉛酵素「アンギオテンシン
変換酵素」活性比と味覚障害患者の亜鉛栄
養状態の評価. 第 20 回日本微量元素学会
シンポジウム、2009.7.3、京王プラザホテ
ル（東京）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武田 憲昭 (TAKEDA NORIAKI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授
研究者番号：30206982

(2) 研究分担者

山本 茂 (YAMAMOTO SHIGERU)
十文字学園女子大学・人間生活部・教授
研究者番号：700093896

(3) 連携研究者

()

研究者番号：