

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09878

研究課題名(和文) 味覚受容障害に及ぼす女性ホルモンおよび加齢の影響

研究課題名(英文) The effects of hormone and aging on taste disorders

研究代表者

脇坂 聡 (Wakisaka, Satoshi)

大阪大学・大学院歯学研究科・名誉教授

研究者番号：40158598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：味覚障害は高齢の女性に多いといわれるが理由は不明である。本研究では、性別・加齢と亜鉛欠乏による味覚異常の関連性について、亜鉛欠乏性味覚障害モデル動物を用いて検討した。亜鉛欠乏により、若齢では雌雄ラット共通して苦味・塩味の閾値上昇がみられ、更年期、中高齢期においては雌性ラットのみ塩味の閾値上昇がみられた。雌雄で共通また相違の機序について、1) 亜鉛欠乏の味覚受容体への作用が雌雄で異なること、2) 雌雄に共通して味覚中継核である結合腕傍核、体液調整に関わる視索上核および視床下部室傍核の神経活動が亜鉛欠乏により低下したこと、3) 低亜鉛雌性ラットへの女性ホルモン補充により塩味閾値の回復、が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

味覚障害が女性が多く、特に高齢期に多く認められるという原因について、3週齢(離乳後)から80週齢(中高齢期)の雌雄の亜鉛欠乏性味覚障害モデル動物を用いた行動学的研究によって、亜鉛欠乏による影響が雄性より雌性で、特に中高齢期で強く現れることを明らかにした点で、味覚障害における亜鉛との関係に性差が生じることを示した重要な結果を示したものと考えられる。さらに女性ホルモンを補充することによって味覚が回復することを示したことは、亜鉛欠乏による女性の味覚障害に対する女性ホルモン投与療法の有効性を示す基盤的研究となりうる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Taste disorders is known to be more common in older women, but it remains unclear. Here, we examined the relationships between sex and aging, and zinc deficiency using an animal model of zinc-deficient induced taste disorders. Zinc deficiency increased the thresholds of bitter and salty tastes in younger male and female rats, and increased the thresholds of salty taste in the middle- and older-aged female rats, but not in male rats. We examined the mechanisms of the common and differential effects of zinc deficiency in male and female rats are as follows: 1) zinc deficiency has different effects on taste receptors in male and female rats, 2) zinc deficiency reduced neural activities in the parabrachial nucleus, which is related taste information, and the supraoptic nucleus and the hypothalamic paraventricular nucleus, which are involved in body fluid regulation, in both sexes, 3) female hormone replacement in zinc-deficient female rats showed restoration of the salt taste threshold.

研究分野：口腔解剖学

キーワード：味覚障害 亜鉛欠乏 加齢 性差 脳機能 茸状乳頭 女性ホルモン

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

味覚障害の患者数は年間 25 万人といわれ、年々増加している。そのうち、亜鉛欠乏性味覚障害の割合が最も多く、次いで薬剤性、心因性などがある。味覚障害を訴える患者の男女比は 2:3 で女性に多く、年齢分布は 60 歳以降に多いとの報告があるが、性差や年齢差の理由は明らかになっていない。

亜鉛欠乏による味覚障害が末梢から中枢への味覚伝導路の障害によるものとする、1) 末梢の味覚受容器である味蕾での味刺激の受容に障害が生じている可能性、2) 中枢神経内の伝導路に障害が生じている可能性、3) 高次中枢での他の感覚情報との統合に障害が生じている可能性、などが考えられる。したがって、亜鉛欠乏性味覚障害の原因を明らかにするためには、亜鉛欠乏が味覚伝導路のいずれの段階に影響を及ぼすかを調べる必要がある。

### 2. 研究の目的

本研究では、性別や加齢と亜鉛欠乏性味覚障害の関連性を明らかにすることを目的とした。特に女性ホルモンが味覚障害に及ぼす影響について明らかにするため、女性ホルモンの分泌量の異なる幼若期、思春期、成熟期、更年期、中高齢期のラットを亜鉛欠乏状態にした場合に、基本味に対する嗜好性がどのように変化するかを調べることを目的とした。また、免疫組織化学的手法を用いて亜鉛欠乏状態が末梢から中枢への味覚伝導路に及ぼす影響を組織学的に明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 実験1 亜鉛欠乏性味覚障害に対する性差と週齢の影響

幼若期(3 週齢)、思春期(7 週齢)、成熟期(11 週齢)、更年期(35 週齢)、中高齢期(80 週齢)の Sprague-Dawley (SD) 雌雄ラットを、それぞれ亜鉛欠乏群とコントロール群に分けた。亜鉛欠乏群には各週齢から 4 週間低亜鉛飼料を摂取させたのに対し、コントロール群には通常飼料を摂取させた。4 週間後から Brief access test と 48 時間二ビン選択法によって 4 基本味の溶液摂取量を調べた。Brief access test は主に味覚閾値や嗜好性を調べる方法である。48 時間二ビン選択法は、与えられた 2 つの溶液のいずれかを自由に選択して摂取することができ、長時間にわたる測定のため摂取後の効果も含む、主に嗜好性を調べる方法である。以下に手続きの詳細を示す。



図1 リックカウンター装置  
動物がシリンジボットの先端のステンレスボールを舐める際、ボール直下を通した光センサーを舌の前後方向の動きによってセンサーをオンオフする信号から、ボールを舐める回数(リック数)をカウントできる仕組みとなっている。

#### (1) Brief access test

短時間の給水制限下においた状態で、リックカウンター装置(図 1)に設置されたボットから蒸留水を摂取させるトレーニングを行った。トレーニング後、5 段階の濃度の味溶液と蒸留水を 1 セットとし、3~5 セット繰り返し呈示した。味溶液は甘味(サッカリン)・塩味(塩化ナトリウム)・酸味(塩酸)・苦味(塩酸キニーネ)溶液のいずれかであった。味溶液や蒸留水を舐めた回数(リック数)について平均リック数をそれぞれ算出した。味溶液の平均リック数を蒸留水の平均リック数で割った値をリック率とし、群間で比較した。

## (2) 48 時間二ビン選択法

2 本のボトルを同時に提示し、一方のボトルには蒸留水、もう一方のボトルに味溶液を入れ、提示開始から 24 時間後に左右の位置を反転させ、さらに 24 時間後（提示開始から 48 時間後）にボトルの重さを測定し、提示開始前の重さから減算することで摂取量を測定した（図 2）。動物は同時に提示された 2 本の溶液のどちらか好ましい方を選択して摂取する。したがって、味溶液の摂取量を全体の摂取量で割ることによって、味溶液に対する嗜好を調べることができる。味溶液の濃度は Brief access test の結果から、群間で差がみられた濃度を用いた。

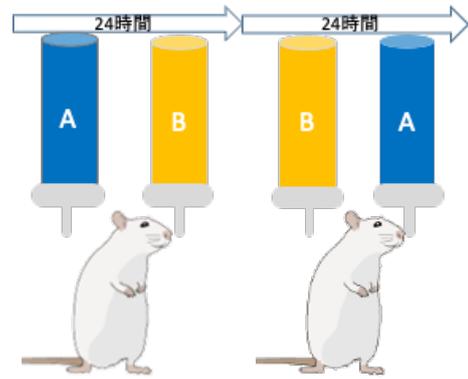


図 2 48 時間二ビン選択法

ボトル A には蒸留水、ボトル B には対象となる溶液を入れ、ボトルを同時にケージに設置する。24 時間後に、左右を反転させる。

## (3) 茸状乳頭について免疫組織化学的検討

幼若期、思春期、更年期の雌雄 SD ラットに亜鉛欠乏食あるいは通常飼料を 4 週間与え、茸状乳頭の数、形について形態学的、組織学的に検討した。さらに、茸状乳頭の味蕾の形態について走査型電子顕微鏡（大阪大学 超高压電顕センター）を用いて検討した。

## (4) アミロイド感受性ブロッカーまた鼓索神経切断による塩味受容機構の行動学的検証

前述の行動実験の結果から、亜鉛欠乏により雌雄ラットに共通して塩味に対する閾値と嗜好性の変化がみられたことから、亜鉛欠乏が塩味受容に及ぼす影響を検証した。塩味受容体を阻害するアミロイド感受性ブロッカー（アミロイド）の投与、あるいは舌前部を支配する鼓索神経の切断が塩味の閾値や嗜好性に及ぼす影響を 48 時間二ビン選択法を用いて調べた。さらに、亜鉛欠乏食を与えた後で通常飼料を摂取させることで亜鉛欠乏状態を回復させた場合に塩味の閾値や嗜好性がどのように変化するか調べた。

## (5) 亜鉛欠乏が中枢神経の活動に及ぼす影響

亜鉛欠乏によって塩味の閾値や嗜好性が変化したことから、亜鉛欠乏は中枢神経における塩味情報処理に影響を及ぼす可能性が示唆された。そこで、神経活動のマーカーである c-Fos 蛋白質を指標として、塩味刺激による神経活動を亜鉛欠乏群とコントロール群で比較した。塩味に応答するニューロンが存在することが報告されている結合腕傍核 (parabrachial nucleus, PBN) と、体液浸透圧調節機構に関わる視床下部室傍核 (hypothalamic paraventricular nucleus, PVN) と視索上核 (supraoptic nucleus, SON) における c-Fos 様蛋白質陽性細胞の数をカウントした。

## 実験2 亜鉛欠乏性味覚障害雌性ラットと女性ホルモンとの関連

生化学的検査によって亜鉛欠乏は雌性ラットの血清エストロゲン、プロゲステロンを減少させることが分かった。そこで、(1) 亜鉛欠乏状態の雌性ラットへの女性ホルモン ( $\beta$ -estradiol, progesterone) 投与、(2) 女性ホルモンを減少させるための卵巣摘出とそのラットへの女性ホルモン補充、が塩味に対する嗜好に及ぼす影響を 48 時間二ビン選択法によって調べた。

## 4. 研究成果

### 実験1 亜鉛欠乏性味覚障害に対する性差と週齢の影響

#### (1) Brief access test

幼少期、思春期では、雌雄ラット共に、高濃度の苦味溶液と塩味溶液のリック率が亜鉛欠乏群において有意に高かった。また、更年期、中高齢期の雌性ラットでは、亜鉛欠乏群の高濃度塩味溶液のリック率が高く、塩味に対する閾値が上昇したが、雄性ラットではみとめられなかった。

#### (2) 48 時間二ビン選択法

幼少期、思春期では、雌雄ラット共に、苦味と塩味に対する嗜好率が上昇した。また、更年期、中高齢期の雌性ラットでは、亜鉛欠乏群における高濃度塩味溶液の嗜好率が高いことが分かった。このような変化は、Brief access test と同様に雄性ラットでは認められなかった。

#### (3) 茸状乳頭について免疫組織学的検討

幼少期、思春期の雄性ラットでは、亜鉛欠乏群の茸状乳頭の大きさが、コントロール群に比べて有意に小さかった。また、思春期の雄性ラットでは、亜鉛欠乏群の茸状乳頭の数が少かった。一方、雌性ラットでは、茸状乳頭の形や数に亜鉛欠乏による変化はみとめられなかった。さらに、茸状乳頭の味蕾の味孔を走査型電子顕微鏡(大阪大学 超高压電顕センター)を用いて観察したところ、雌雄ラットに共通して、亜鉛欠乏群では味孔の位置がより深部にあり、また味孔の大きさが小さくなる傾向がみられた。これらの結果から、亜鉛欠乏による影響の程度が雌雄で異なる可能性が示された。

#### (4) アミロライド感受性ブロッカーまた鼓索神経切断による塩味受容機構の行動学的検証

ナトリウムチャンネルブロッカーであるアミロライド投与が塩味の嗜好に及ぼす影響を 48 時間二ビン選択法を用いて調べた。コントロール群では、アミロライド処置によって低濃度塩味溶液に対する嗜好が低下したが、亜鉛欠乏群ではアミロライド処置による影響は認められなかった。また、鼓索神経切断による変化もみられなかった。さらに、亜鉛欠乏食を与えた後で通常飼料を摂取させることで亜鉛欠乏状態を回復させた場合、コントロール群の塩味の閾値や嗜好性と同等の値を示した。これらのことから、思春期では雌雄に関わらず、亜鉛欠乏により末梢機能が低下することが明らかとなった。

#### (5) 亜鉛欠乏が中枢神経の活動に及ぼす影響

麻酔下で蒸留水、塩化ナトリウム溶液(0.1 M, または 3 M)で舌を刺激し、PBN、PVN、SON の c-Fos 様蛋白質陽性細胞数を調べた。3 M 塩化ナトリウムの刺激後に観察される背外側 PBN、PVN、SON の c-Fos 様蛋白質陽性細胞の数が亜鉛欠乏群では有意に少なかった。このことから、雌雄ラットに共通して観察される亜鉛欠乏による塩味嗜好性の変化は味覚受容機構と体液浸透圧調節機構の両方の神経活動の低下によって生じる可能性が示唆された。

### 実験 2 亜鉛欠乏性味覚障害雌性ラットと女性ホルモンとの関連

#### (1) 亜鉛欠乏性味覚障害雌性ラットに対する女性ホルモン投与

亜鉛欠乏状態の雌性ラットに女性ホルモン補充を行ったところ、高濃度の塩味溶液に対する嗜好率がコントロール群と同等の値を示した。

#### (2) 卵巣摘出处置ラットの塩味の嗜好性と女性ホルモン投与による検討

卵巣摘出された雌性ラットでは高濃度塩味溶液に対する嗜好が上昇し、女性ホルモンを補充すると通常のレベルに戻った。これらの結果から、女性ホルモンが塩味の閾値や嗜好性の変化に関連していることが明らかとなった。

以上の結果から、雌性ラットは雄性ラットに比べて、亜鉛欠乏によって特に塩味に変化を生じやすいことが明らかとなった。ただし、亜鉛欠乏がもたらす変化の性差に週齢が影響する場合と影響しない場合があることが分かった。そのため、亜鉛欠乏は加齢の各段階において複雑な影響を及ぼすと考えられる。また、亜鉛欠乏状態でも女性ホルモンの補充によって高濃度塩味溶液の嗜好が通常レベルに回復したという結果は、女性ホルモンが味覚障害に関与していることを示唆しており、今後、さらに臨床に向けた検討を進める。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Abdel maksoud Fatma M., Inui Yamamoto Chizuko, Kawano Akiyo, Honma Shiho, Saeki Naoya, Abe Makoto, Kuraki Moe, Ohba Shinsuke, Wakisaka Satoshi	4. 巻 307(2)
2. 論文標題 Histological and immunohistochemical studies of the fungiform and the circumvallate papillae through the life stages from 6 to 72 week old Sprague Dawley male rats	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Anatomical Record	6. 最初と最後の頁 414 ~ 425
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ar.25338	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 乾千珠子, 河野彰代, 井上陽介, 大庭伸介, 脇坂 聡
2. 発表標題 亜鉛欠乏モデル動物の高濃度塩味嗜好性の変化における味覚情報伝達機構の解析.
3. 学会等名 第128回日本解剖学会全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 河野彰代, 乾千珠子, 井上陽介, 大庭伸介, 脇坂聡
2. 発表標題 亜鉛欠乏動物の塩味嗜好性変化に関する神経機構の解明.
3. 学会等名 日本味と匂学会第56回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河野彰代, 乾千珠子, 脇坂 聡
2. 発表標題 食事性亜鉛欠乏性味覚障害モデル動物の塩味刺激による結合腕傍核および視索上核の神経応答解析.
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Inui-Yamamoto C, Kawano A, Inoue Y, Ohba S, Wakisaka S
2. 発表標題 Analysis of neural responses to salt stimuli in experimental animal model of taste disorder caused by dietary-induced zinc deficiency.
3. 学会等名 第19回 国際シンポジウム「味覚嗅覚の分子神経機構」(国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 乾千珠子、河野彰代、Fatma M. Abdelmaksoud、倉木萌、阿部真士、本間志保、脇坂 聡
2. 発表標題 ライフステージを通じたSD雄性ラットの有郭乳頭と茸状乳頭の組織学的解析
3. 学会等名 日本味と匂学会 第55回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河野彰代、乾千珠子、本間志保、脇坂 聡
2. 発表標題 食事性亜鉛欠乏性味覚障害に対する性差の影響についての検討
3. 学会等名 日本味と匂学会 第55回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kawano A, Inui-Yamamoto C, Saeki N, Abe M, Maeda T, Wakisaka S
2. 発表標題 Effects of age and sex difference on the taste disorder caused by dietary zinc deficiency
3. 学会等名 Oral Neuroscience 2021 (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	乾 千珠子 (山本千珠子)  (Inui Chizuko)  (00419459)	大阪大学・大学院歯学研究科・助教    (14401)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	河野 彰代  (Kawano Akiyo)  (10570294)	大手前短期大学・歯科衛生学科・准教授    (44416)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------