The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	実験的低亜鉛がラット味覚受容・伝達に及ぼす影響
Author(s)	河野, 彰代
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/67082
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　河野　彰代　）	
論文題名	実験的低亜鉛がラット味覚受容・伝達に及ぼす影響

論文内容の要旨

【緒言】亜鉛は必須微量元素の一つであり、生体の多くの重要な代謝に関与している。亜鉛欠乏は、発育遅延、食欲不振、脱毛、性機能不全、感覚器、特に味覚障害を生じることが知られており、味覚障害患者に対して亜鉛の内服投与で味覚障害が改善される場合が多いと報告されている。

味覚伝達は舌上皮や咽頭に存在する味蕾で味刺激が受容され、ラットでは孤束核、結合腕傍核、視床・視床下部を経て大脳皮質味覚野へ投射する。味覚受容器である味蕾は50～100個の細胞で構成され、微細構造からⅠ～Ⅳ型細胞に分類される。Ⅳ型細胞は味蕾基底部に存在する円形の細胞で、他の型の細胞の前駆細胞とされている。基本味のうち、酸味と塩味はⅢ型細胞で、苦味、甘味、うま味はⅡ型細胞で受容するとされ、それらの受容体が明らかになっている。また味蕾細胞の寿命は10～14日といわれ、常にターンオーバーが起きている。味覚伝達の中継核である孤束核や結合腕傍核では味覚情報により神経活動を示す神経細胞が部位特異的に存在することがc-Fosを指標として示されている。しかしながら低亜鉛に代表される味覚障害を示す動物においてc-Fos発現がどのように変化するかについての報告はみられない。そこで本研究では、低亜鉛状態がラットの味覚、特に苦味の受容・伝達に及ぼす影響を、結合腕傍核におけるc-Fos発現を指標として免疫組織化学的に検討した。さらに味蕾細胞の分化や味蕾構成細胞型に対する低亜鉛の影響についても検討を加えた。

【方法】実験動物としてSprague-Dawley系３週齢の雄性ラットを用い、以下のモデル動物群を作製した。なお、本研究は大阪大学大学院歯学研究科実験動物委員会の認可を受け行った。

Ⅰ　低亜鉛群　ラットを３週齢より４週間低亜鉛飼料(亜鉛含量0.12mg/100mg)で飼育。

Ⅱ　低亜鉛対照群　ラットを３週齢より４週間正常飼料(亜鉛含量5.28mg/100mg)で飼育。

Ⅲ　低亜鉛回復群　ラットを３週齢より４週間低亜鉛飼料で飼育後、４週間正常飼料で飼育。

Ⅳ　低亜鉛回復対照群　ラットを3週齢より8週間正常飼料で飼育。

すべての群の動物に飲水として蒸留水を与え、以下について検討を行った。

①　生理学的検討　飼育期間の動物の体重変化や皮膚の変化等の観察

②　生化学的検討　実験終了時に採血し、血清中の亜鉛や他の電解質値の測定。

③　行動学的検討　蒸留水(DW)と0.01mM塩酸キニーネ溶液(QHCl)を同時に提示し、48時間自由摂取させた後、飲水量を測定し、QHClに対する嗜好率（DWとQHClの総飲水量に対するQHClの飲水量の比率)を算出。

④　組織学的検討　抱水クロラール麻酔下で舌上皮に1mM QHClを30分滴下し、滴下終了90分後に灌流固定し、結合腕傍核を含む部位を摘出し、厚さ40□mの浮遊切片を作製し、c-Fosに対する抗体を用いて免疫組織化学を行い、結合腕傍核でのc-Fos陽性ニューロン数の定量的変化を算出。また、有郭乳頭の凍結切片を作製し、proliferating cell nuclear antigen（PCNA；細胞分化のマーカー)、phospholipase C β2（PLCβ2；Ⅱ型細胞マーカー)，neural cell adhesion molecule（NCAM；Ⅲ型細胞マーカー)、Jacalin（Ⅳ型細胞マーカー)を指標として免疫組織化学あるいはレクチン組織化学を行い、味蕾細胞における陽性細胞の比率を算出。

【結果】①　生理学的観察　低亜鉛群の体重増加は、低亜鉛飼料開始直後より低亜鉛対照群に比べて緩やかになり、低亜鉛飼料開始２週後より有意差を認めた。低亜鉛回復群では、正常飼料に戻した直後より、体重増加が認められた。一部の低亜鉛飼育動物には脱毛が認められたが、正常飼料に戻した後に回復した。

②　生化学的検討　低亜鉛群の血清亜鉛値は低亜鉛対照群と比較して有意に低下していたが、他の電解質（Na, Cl, K, Ca, Mg)には低亜鉛群と低亜鉛対照群の間に差は認められなかった。低亜鉛回復群の血清亜鉛値は低亜鉛対照群、低亜鉛回復対照群と有意差は認められなかった。

③　行動学的検討　48時間2瓶選択法では、低亜鉛群ではQHClに対する嗜好率は低亜鉛対照群と比較して有意に増加していた。一方、低亜鉛回復群、低亜鉛回復対照群では、QHClに対する嗜好率に有意差は認められなかった。

④　組織学的検討　低亜鉛対照群ではQHClの刺激により結合腕傍核の外部外側亜核(elPBN), 外部内側亜核(emPBN)においてDW刺激と比較して有意に多いc-Fos陽性ニューロンが認められたが、低亜鉛群ではQHCl刺激によるelPBNとemPBNでのc-Fosニューロンの増加は認められなかった。低亜鉛回復群では、QHCl刺激後のelPBN、emPBNでのc-Fosニューロンの数は低亜鉛回復対照群と同程度であり、DW刺激に比べて有意に増加していた。一方甘味に応答するニューロンが多いといわれている背側外側亜核(dlPBN)では低亜鉛群、低亜鉛対照群、低亜鉛回復群とも、QHCl刺激とDW刺激後のc-Fos陽性ニューロンの数に有意差は認められなかった。

味蕾細胞の数は全ての群間で有意差は認められなかった。有郭乳頭味蕾でのPCNA陽性細胞の比率は低亜鉛群では低亜鉛対照群の約2/3に低下していたが、低亜鉛回復群では低亜鉛回復対照群とほぼ同じであった。低亜鉛群の味蕾でのPLCβ2(Ⅱ型細胞)、NCAM(Ⅲ型)、Jacalin(Ⅳ型細胞)の割合は低亜鉛対照群と有意差は認められなかった。

【考察】低亜鉛飼料で飼育した低亜鉛群の動物では血清亜鉛濃度が低下し、ヒトに認められる亜鉛欠乏症の症状と同様の発育遅延や脱毛が認められた。低亜鉛群の動物では結合腕傍核で苦味に応答するニューロンが多いと報告されているelPBN、emPBNにおいてQHCl刺激後のc-Fos陽性ニューロンの数が減少したが、甘味に応答するニューロンが多いと報告されているdlPBNでは、低亜鉛による影響はほとんど認められなかったことより、本モデルでは、苦味を甘味など異なる味として感じる「錯味症」ではなく、苦味の味覚閾値が上昇して味覚減退が起きていると考えられる。

低亜鉛により細胞増殖マーカーであるPCNA陽性細胞の割合が約2/3に減少したが、味蕾の細胞数や各細胞型の割合には変化が認められなかったことより、味蕾細胞のturnover timeが約1.5倍に延長し、低亜鉛の影響は全ての細胞型に及んでいると考えられた。また亜鉛正常飼料の投与により、PCNA陽性細胞の割合は対照群と同程度に回復し、味蕾の細胞数には変化がないことより、turnover time の延長も回復したと考えられる。

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　河野　彰代　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教　授	脇坂　聡
	副 査	教　授	加藤　隆史
	副 査	准教授	中澤　敬信
	副 査	准教授	伊藤　祥作

論文審査の結果の要旨

本研究は食事性亜鉛欠乏動物における、味覚受容・伝達について検討したものである。その結果低亜鉛飼料で飼育したラットはヒトの亜鉛欠乏症と同様に発育低下、皮膚の異常が認められ、味覚減退を示す行動が認められた。この動物では苦味刺激に対して味覚伝達経路の中継核である結合腕傍核における神経活性が低下していた。また、味蕾細胞のターンオーバーが延長していることも明らかとなった。これらの変化はその後正常飼料で飼育すると正常に戻った。以上の所見は亜鉛欠乏による味覚異常のメカニズムの解明に極めて有用であり、博士（歯学）の学位論文として価値あるものと認めた。