

低亜鉛食給与ラットの側脳室への亜鉛投与が摂食量に及ぼす影響

矢野 史子

近畿大学生物理工学部

Effect of Lateral Ventricular Injection of Zn on Food Intake in Rats Fed Zn-deficient Diet

Fumiko YANO

Faculty of Biology-Oriented Science and Technology, Kinki University

When rats are offered a zinc-deficient diet, they decrease their total food intake. Their normal food intake alternate with low intake in a 3-5 day cycle. The present study was conducted to examine the function of free-zinc in the regulation of appetite in zinc-deficient rats.

Zero, 1.5, 15 and 150 ppm-Zn as $Zn(NO_3)_2$ and 150 ppm-Zn as $ZnSO_4$ dissolved in $10\mu l$ of Ringer solution was injected into the lateral ventricle of zinc-deficient rats indicating low food intake. The central administration of Zn was once a day at 8:00 p.m. The daily food intake was measured during short (3 days) and long (8-11 days) period of the injection. Total food intake and the cyclic alternation of daily food intake in zinc-deficient rats were not recovered by the lateral-ventricular administration of inorganic Zn. The reduced food intake by dietary zinc insufficiency may not depend on the change of extracellular zinc concentration.

ラットに低亜鉛食を給与すると、周期的な摂食量の減少を示し、同時に総摂食量が低下することが知られている。摂食量の低下は、亜鉛欠乏を介した脳内カテコールアミンの上昇によるという説¹⁾もあるが、周期的な摂食量の変化に亜鉛がどのように関与しているかは明らかではない。先の試験で4週齢のラットを低亜鉛食で20日間飼育したところ、摂食量、血清中亜鉛濃度は有意に低下するが、脳内各部（線条体、海馬、小脳）の亜鉛濃度、及び海馬透析性亜鉛濃度にも変化は認められないという結果を得た²⁾。総摂食量の低下、周期的な摂食量の変化が、脳組織内の亜鉛濃度と関係していないとすれば、脳細胞外液中亜鉛濃度の影響が推測される。そこで、本試験では、低亜鉛食給与で摂食量の低下を示しているラットの側脳室に亜鉛溶液を注入して、脳脊髄液（脳細胞外液）中亜鉛濃度を人為的に上昇させた時に、摂食量に影響が現れるかどうかを検討した。

実験方法

供試動物として、8週齢雄ウイスター系ラットを用いた。給与飼料として、AIN-76のミネラルミックスを用いて調整された低亜鉛食 (Zn-1ppm) と対照食 (Zn-30ppm) を用いた。

実験1：対照食を給与しているラットに、側脳室へのガイドカニューレ装着手術を行い、摂食量が回復した後(術後7日目)に低亜鉛食に切り替えた。動物を4区に分け、低亜鉛食給与後7-9日目から1日1回午後8時に Zn-0, 1.5, 15, 150ppm を含むリングル液を10 μ l 側脳室内に注入し、3日間にわたり日摂食量を測定した。無機亜鉛としては、硝酸亜鉛を用いた。

実験2：低亜鉛食給与後3日目のラットに、側脳室ガイドカニューレ手術を行った。その後摂食量の周期的変化が出現してから(低亜鉛食給与11日目, 術後8日目), 1日1回午後8時に Zn-0, 1.5, 150ppm を含むリングル液を10 μ l 側脳室内に注入し、8-11日間にわたり日摂食量を測定した。無機亜鉛としては、硝酸亜鉛を用いた。

実験3：低亜鉛食給与後3日目のラットに、側脳室ガイドカニューレ装着手術を行った。その後摂食量の周期的変化が出現してから(低亜鉛食給与11日目), 1日1回午後5時に Zn-0, 150ppm を含むリングル液10 μ lの側脳室注入を10日間行い、注入後1時間の摂食量と日摂食量を測定した。無機亜鉛として、硫酸亜鉛を用いた。

結果と考察

実験1：対照食給与時は、平均1日摂食量は28.1gであったが、低亜鉛食給与後5日目には17.6gと有意に低下していた。側脳室への亜鉛溶液注入を3日間おこなったが、どの区においても1日平均摂食量への影響は認められなかった。また周期的な摂食量の変化にも影響は与えなかった。(Table 1)

3日間の注入試験では、摂食周期の全期間をカバーできなかったため、実験2では1週間以上の長期注入を試みた。

実験2：8-11日間の長期注入でも、亜鉛0ppm, 1.5ppm, 150ppm 注入区での平均1日摂食量は、14.3g, 15.6g, 16.1gと、各区間で有意な差は認められなかった。また、注入期間中、周期的摂食量の変化は解消されることなく持続した。(Table 2)

Table 1. Effect of lateral ventricular injection of Zn as Zn (NO₃)₂ on daily food intake in Zn-deficient rats (Experiment 1. 3 days period)

n	Infusate (10 μ l)	Daily Food Intake (g/day)
3	0 ppm Zn	14.92 \pm 4.28
3	1.5ppm Zn	19.33 \pm 3.17
3	15 ppm Zn	19.33 \pm 1.53
3	150 ppm Zn	15.57 \pm 1.28

Daily feed intake in rats fed normal Diet :
28.07 \pm 1.86g/day

Table 2. Effect of lateral ventricular injection of Zn as Zn (NO₃)₂ on daily food intake in Zn-deficient rats (Experiment 2. 8-11 days period)

n	Infusate (10 μ l)	Daily Food Intake (g/day)
5	0 ppm Zn	14.35 \pm 0.54
5	1.5ppm Zn	15.64 \pm 1.50
5	150 ppm Zn	16.08 \pm 1.01

実験3：無機亜鉛として硫酸亜鉛を用いた本実験では、150ppm-Zn区では1日平均摂食量が、リングル液区より有意に減少した。注入後1時間目の摂食量は、有意ではないが150ppm-Zn区で少ない傾向があった。しかし、周期的な摂食量の減少は解消されなかった。(Table 3)

Table 3. Effect of lateral ventricular injection of Zn as (ZnSO₄) on daily food intake and 1 hr food intake immediately after injection in Zn-deficient rat (Experiment 3. 8 days period)

n	Infusate (10 μ l)	Daily Food Intake (g/day)	Food Intake After Infusion (g/hr)
4	0ppm Zn	13.13 \pm 0.59	1.01 \pm 0.60
3	150ppm Zn	11.89 \pm 0.51*	0.56 \pm 0.19

*Significant difference from the 0ppm group ($p < 0.05$)

脳脊髄液中亜鉛は、促進拡散で血漿中透析性亜鉛と交換している。低亜鉛食給与では、血漿中亜鉛濃度は対照食区の70%程度にまで低下するので、脳脊髄液亜鉛濃度も同様の低下をしていると考えられる。

本試験では、低亜鉛食給与により脳脊髄液亜鉛濃度が低下し、食欲の抑制をもたらした、との仮説のもとに、脳脊髄液中亜鉛イオン濃度を上昇させる方法として、亜鉛溶液の側脳室注入を行った。ラットの脳脊髄液容量を約300 μ lとすると、1.5ppm-Zn溶液10 μ l注入では、脳脊髄液亜鉛濃度は0.05ppm上昇することになる(15ppm-Znでは、約0.5ppm、150ppm-Znでは、約5ppmの上昇)。正常時の脳脊髄液亜鉛濃度は0.01-0.02ppmとされているので、5-500倍の濃度変化が生じていることが推察される。また神経細胞内には亜鉛が小胞内に高濃度に存在しており、小胞内亜鉛がシナプス間隙に放出されて、何らかのシグナル因子として働いているのではないかとされている³⁾。細胞外液の亜鉛との濃度差は10³倍と言われており、150ppm溶液による500倍の濃度変化は、シナプス間隙における濃度変化の範囲内と考えられる。摂食量の低下を示しているラット側脳室へ亜鉛溶液を注入しても摂食量が回復しないのは、低亜鉛食給与による摂食量低下は脳脊髄液亜鉛濃度とは関係がないか、あるいは脳脊髄液亜鉛濃度の上昇だけでは、食欲中枢へのシグナルとはならないことを示しているのかもしれない。

また、生理的濃度以上のフリー亜鉛は神経毒として働くことが示唆されている⁴⁾。実験3の硫酸亜鉛を用いた150ppm-Zn注入で、1時間摂食量、1日平均摂食量ともに減少傾向が見られたのは、脳脊髄液亜鉛濃度を局部的に生理濃度以上に上昇させた結果かもしれない。

本実験で用いた側脳室注入法では、亜鉛が食欲中枢にまで浸透していないことも考えられる。今後食欲中枢により近い第3脳室への亜鉛溶液注入を行う必要があるだろう。

文 献

- 1) Wallwork, J. C., Botnen, J. H. and Sandstead, H. H. (1982) J. Nutr. 112 : 514
- 2) 豊田 淳, 白木琢磨, 矢野史子, 松井 徹, 矢野秀雄 (1993) 微量栄養素研究 10 : 55
- 3) Frederickson, C. J. (1989) Int. Rev. Neurobiol. 31 : 145

- 4) Ebadi, M., Murrin, L. C. and Pfeiffer, R. F. (1990) Ann. N. Y. Acad. Sci. 585 : 189