

## 亜鉛欠乏ラットの摂食周期と脳内セロトニン分泌量の関係

丸山篤史, 矢野史子  
(近畿大・生物理工\*)

### **The Relationship Between the Cyclic Feed Intake and the Amount of 5-HT in the Brain of Zn Deficient Rats**

Atsushi MARUYAMA, Fumiko YANO

*School of Biology - Oriented Science and Technology, Kinki University, Wakayama 649-6493*

It is well-known that feed intake is changed periodically in Zn deficient rats, but the physiological mechanism of the cyclic feed intake has never explained. We considered the increase or the decrease of feed intake to be a promotion or a loss of appetite, and assumed that cyclic feed intake appeared because the feeding center of rat was affected by Zn deficiency. The normal diet group (Nor), the Zinc deficient diet group (-Zn) and the pair-fed group (PF) were prepared. The amount of serotonin (5-HT) in extracellular fluids of the feeding center, lateral hypothalamus (LH), was measured in each group of rats. The average amount of 5-HT differed significantly ( $p < .05$ ) between 3 groups; 61.8 fmol/40  $\mu$ l in the normal feeding group, 38.3 fmol/40  $\mu$ l in the Zn deficient group and 17.9 fmol/40  $\mu$ l in the pair-fed group. The relationship between the feed intake and the amount of 5-HT level at 4 feeding phase 5 was examined. The change of 5-HT in the Zn deficient group had the periodicity and the increase of 5-HT preceded the decrease of feed intake and the decrease of 5-HT preceded the increase of feed intake. The change of 5-HT and the cyclic feed intake in the pair-fed group were different from the pattern of the Zn deficient group. In the view of these outcomes, it was supposed that Zn deficiency resulted in the change of 5-HT in LH and that the change of 5-HT might induce the cyclic feed intake.

亜鉛欠乏は、動物に対して広い範囲の機能障害をもたらす、特に摂食量の減少と成長遅滞は軽度亜鉛

---

\*所在地：和歌山県那賀郡打田町西三谷930 (〒649-6493)

欠乏の明白な兆候と考えられている<sup>1)</sup>。亜鉛欠乏ラットの摂食量は正常ラットに比べて減少するだけでなく3~4日毎に増減し、3.5日周期のコサインカーブによく一致することが知られている<sup>2)</sup>。しかし、摂食周期の発現における亜鉛の役割は未だ解明されていない。

食欲を支配する代表的な脳部位の一つである視床下部外側野 (*lateral Hypothalamus*, LH) は摂食中枢とも呼ばれ、活動の昂進によって過食を、抑制によって拒食を誘導する<sup>3)</sup>。抑制的な制御に関わる神経伝達物質の一つであるセロトニン (5HT) のニューロン系がLHに投射していること<sup>4),5)</sup> から、本試験ではラットを用いてLHでの5HT分泌量と亜鉛欠乏による摂食量の周期的変動の関係をマイクロダイアリシス法により検討した。

## 材料と方法

8週齢のSPF *Wistar*系雄ラットを低亜鉛精製飼料 (Zn 0.2ppm) と正常精製飼料 (Zn 30ppm) の2種で飼育した (Table 1)。導入時には全てのラットに正常飼料を与え、2日以上 of 馴致期間をおいてから、LHにカニューレ手術を行った。Paxinos & Charlsの脳地図<sup>6)</sup> に従い、ガイドカニューレの先端はプレグマを基準として後ろに2.8mm, 左右に1.8mm, 深さ8mmに届いている。手術回復後に亜鉛欠乏区 (-Zn区, 6頭) と正常区 (Nor区, 4頭), pair-fed区 (PF区, 4頭) に分け、亜鉛欠乏区と正常区は、それぞれの飼料を自由に摂取させ、試験期間中は摂食量を毎日測定した。本試験では亜鉛欠乏ラットにおける摂食周期を4つの時期に分けた。摂食量の増加する時期を増加期 (Increase phase), 摂食量が高い値で連続する時期を極大期 (Maximum phase), 摂食量の減少する時期を減少期 (Decrease phase) とし、摂食量が低い値で連続する時期を極小期 (Minimum phase) とした (Fig. 1)。pair-fed区には、各時期における摂食量の平均値にしたがって正常飼料を4日周期で与えた。飲料水は脱イオン水を自由飲水させた。

LHの細胞外液中の5HT量は、HPLC (SHIMADZU LC-10ADシステム) と電気化学検出器 (EICOM ECD300) を組み合わせたオンラインマイクロダイアリシス法を用いて透析サンプル40  $\mu$ l ごとに測定した。測定は、正常区では摂食量回復後随時、亜鉛欠乏区とpair-fed区は摂食周期の2周期日以降に、1頭あたり連続3~4日間、1日あたり連続6~7回測定した。本研究では摂食量が10gより下回ることを亜鉛欠乏による摂食異常の目安とした。3~4日間の測定を終了後、翌日以降の摂食量を確認してから屠殺し、染色試薬をガイドカニューレから注入した後に全脳を回収、10%ホルマリンで固定して前頭断を行い、ガイドカニューレの挿入位置を確認した。

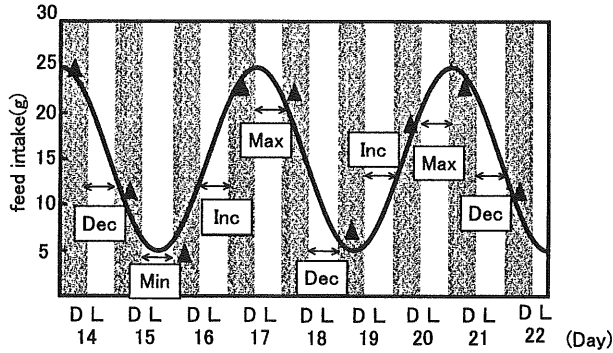
**Table 1-1.** Composition of diet (g/kg)

Ingredient	Nor.	- Zn
Egg white	200	200
Methionine	3	3
Sucrose	360	360
Corn starch	319	319
Corn oil	40	40
Cellulose	30	30
Vitamine mix	10	10
Mineral mix	35	35
CuSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.0394	0.0394
ZnCO <sub>3</sub>	0.0560	0
Biotin	0.0500	0.0500

Vitamin mix : AIN76 \*

Mineral mix : AIN76 \* : Zn & Cu free

\*Oriental Yeast Co., Ltd.

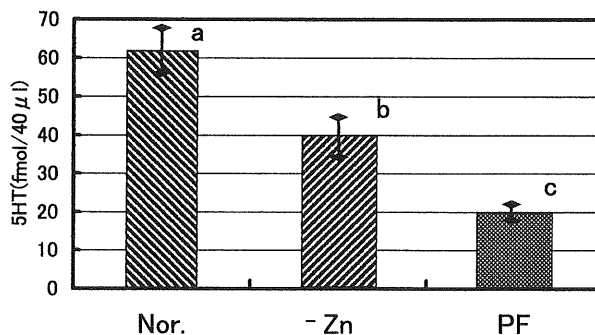


**Fig. 1** The cyclic feed intake and the four phases

The curve is theoretical. Triangles (▲) are the actual value of the feed intake. 14-22 show days from one rat fed the -Zn diet. "D" and "L" are "dark period" and "light period". [Inc], [Max], [Dec] and [Min] show "Increase Phase", "Maximum Phase", "Decrease Phase" and "Minimum Phase" of the feed intake cycle in order.

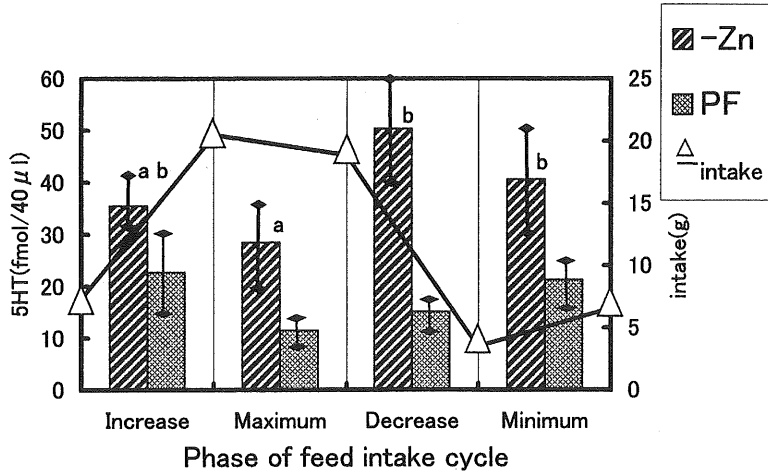
### 結果と考察

正常区で連続3~4日間測定したデータからは測定日間に有意差は見られなかった。LHでの5HT分泌量の平均値は、Nor区 (61.8fmol/40 μl), -Zn区 (38.3fmol/40 μl), PF区 (17.9fmol/40 μl) の順で有意に減少した (p<.01, Fig. 2)。5HTの合成源であるトリプトファンの摂取量と脳内の5HT濃度は比例していると考えられていることから<sup>7),8)</sup>, pair-fed区での5HT量の減少は摂食量の減少が原因の一つと思われる。しかし、亜鉛欠乏区では、ほぼ同量の飼料を摂取している pair-fed区と比べて5HT量が有意に高くなった。亜鉛欠乏区と pair-fed区の摂食周期、各時期での5HT量平均値をFig. 3に示した。亜鉛欠乏区では4つの時期の間に有意差が生じ、極大期と比べて減少期と極小期で有意に高い値を示した (p<.05)。又、有意差は確認できなかったが、増加期よりも減少期の5HT量に高い傾向が見られた。このことから、亜鉛欠乏区における5HT分泌量は、摂食周期と連動して周期的に増減すると考えられた。また pair-fed区における5HT分泌量でも、極大期と極小期の間には有意差が確認でき (p<.05), pair-

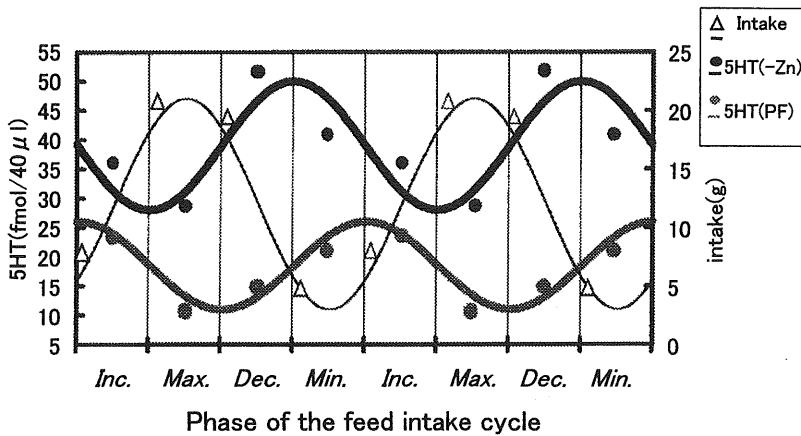


**Fig. 2** The average amount of 5-HT in the three groups

Values are mean ± SE. Different letters are significantly different at p<.05.



**Fig. 3** The feed intake and the average amount of 5-HT at the four phases in the Zn deficient and the pair-fed rats. Values are mean ± SE. Different letters are significantly different at p<0.05.



**Fig. 4** The cosine curve approximating the average amount of the feed intake, 5-HT in the Zn deficient rats and 5-HT in the pair-fed rats

Triangle (△) is the average amount of the feed intake. Black circle (●) and Gray circle (●) show the average amount of 5-HT in the Zn deficiency rats and in the pair-fed rats in order. [Inc], [Max], [Dec] and [Min] show "Increase phase", "Maximum Phase", "Decrease Phase" and "Minimum Phase" of the feed intake cycle in order.

fed区でもLHにおける5HT分泌量が周期的に変動することが示唆された。Fig. 4に本試験での摂食量と5HT量の変動に近似するようなコサインカーブを2周期分並べた。亜鉛欠乏区で、摂食量の増加が5HT量の増加を、また摂食量の減少が5HT量の減少を引き起こしていると考え、摂食の影響が36時間後にでることとなり、ラットの生理としては合理的ではない。5HT量が減少することで摂食量が増加し、5HT量が増加することで摂食量が減少すると考えれば、5HTの分泌傾向を追う形で12時間後の摂食量に変動していると推定される。また、亜鉛要求量を満たすpair-fed区の5HT量が平均値だけでなく、変動

パターンも亜鉛欠乏区と異なることから、亜鉛欠乏によって生じる摂食周期は、亜鉛の不足によるものと考えられる。以上のことから、亜鉛欠乏が何らかの機構でLHでの5HT量を変動させ、これが摂食周期を誘導している一因となっているのではないかと考えられた。

## 文 献

- 1) L. R. McDwell (1992) : Minerals in Animal and Human Nutrition, Academic Press.
- 2) Nanaya Tamaki et al (1995) British Journal of Nutrition. 73 : 711
- 3) 小幡邦彦 他：新生理学 第2版, 文光堂
- 4) 粟生修司 末松弘行：摂食と飲水行動, 羅中山書店
- 5) 田代信夫編著：目で見える精神医学シリーズ1 脳-その構造と機能 (1993), 世界通信社
- 6) George Paxinos & Charls Watson : The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates 2nd edition, Academic Press, Inc.
- 7) Theordore E et al (1994) : Nutrition Reviews.52, No.12 : 399
- 8) 野村正彦 (1995) 日本農芸化学会誌 69, 5 : 574