マウスのかつおだし嗜好性に及ぼす飼料組成の影響

近藤 高史

近畿大学農学部食品栄養学科食品化学研究室

Influences of dietary composition on preference for dried bonito dashi in mice

Takashi KONDOH

Department of Food Science and Nutrition, Faculty of Agriculture, Kindai University, 3327-204 Nakamachi, Nara 631-8505, Japan

Synopsis

Intake and preference for dried bonito *dashi* in rats are reduced by ingestion of high fat, high sucrose, or low protein, but not high protein diet. Here, the same experiments were performed in two strains of mice (C57BL/6N and ICR). Standard ascending concentration series of 48h two-bottle choice tests were employed. C57BL/6N mice fed control diet did not show preference for the *dashi* to water over a wide range (0.1-100% *dashi*), and no diet influenced it. In contrast, ICR mice fed control diet showed weak aversion for low concentrations (0.1-2%), while they preferred higher concentrations (10-100%) of *dashi*. Ingestion of high fat or low protein diet abolished the *dashi* preference, but neither high sucrose nor high protein diet influenced it. Presentation of *dashi* from the highest to the lowest one (descending concentration tests) also increased *dashi* preference in this mouse strain. These results suggest that dietary composition influenced dried bonito *dashi* preference in ICR but not C57BL/6N mice. Enhancement of experience-based *dashi* preference was also observed in ICR mice.

Keywords: dried bonito dashi, preference, dietary composition, food experience, mice

マウスのかつおだし嗜好性に及ぼす飼料組成の影響 近藤

1. 緒言

食物や飲物の好み(好き嫌い)には、個人差がある 1 。この理由として、味、匂い、食感などの摂取前作用 (oral effects; \Box に加えて、摂取後作用 (postoral effects) の関与が大きい 2 。別の表現をすると、先天的因子(遺伝因子)と後天的因子(環境因子)の両方が関与する 3 。例えば、リシンは必須アミノ酸であり苦味を呈するが、リシン欠乏動物はリシン溶液を好んで選択的に摂取する 4 。食物嗜好性は、食物側の因子だけで決まらないことが、おいしさ/嗜好性のメカニズム解明を難しくする最大の要因となっている。

だしは和食の味付けの基本である 5.60。鰹節や昆布などの乾物を使っただしを使う食文化があるのは、世界の中でもほぼ日本だけである。多くの日本人はだしを好むが、だしに馴染みのない海外の人々は、だしを「磯臭い、生臭い、魚臭い」と敬遠する傾向が強い 7.80。だしの代表格であるかつおだしについて、その成分を分析すると、酸味成分 (乳酸) や苦味成分 (ヒスチジン、クレアチン、クレアチニンなど) が大半を占める 90。一方で、ヒトが好む成分 (塩味、甘味、うま味、脂肪) の量は少ないかごくわずかである。したがって、成分分析を行っても、だしが和食に欠かせない理由について合理的な説明をすることは難しい。

そこで、日本で広く用いられているかつおだしを研究材料に用い、「かつおだしの嗜好性は、かつおだしの摂取経験に大きな影響を受ける」と仮説を立てた^{10,11)}。かつおだしは最初からおいしいというより、飲むことによって好きになるという仮説である。しかし、日本でかつおだしを一度も飲んだことのない被験者を探す(研究に必要な人数を集める)ことはかなり困難である。それに対し、実験動物(ラット、マウスなど)であれば、生まれてから一度もかつおだしを摂取した経験をもたない。

そこで、実験動物を用いて研究を進めた結果、実験条件に依存してかつおだしの摂取量と嗜好性が大きく変化することを見出した。たとえば、Sprague-Dawley ラットはかつおだしを水より好んで摂取する ¹²⁾。このかつおだし嗜好性は、飼料組成を変化させた飼料(高脂肪食/高スクロース食/低たんぱく質食のいずれか)を与えると抑制されるが ^{12,13)}、高たんぱく質食を与えても影響されない。これに対し、コントロール食/高脂肪食/高スクロース食のいずれの飼料を摂取していても、下降濃度テスト(かつおだしを、2 日ごとに最も高い濃度から最も低い濃度に向かって徐々に摂取させるテスト)を行うと、かつおだし嗜好性が著しく増加する ^{12,13)}。一方、C57BL/6N マウスは、かつおだし嗜好性が非常に弱い(コントロール食摂取条件下)あるいはまったく嗜好性を示さない(高脂肪食摂取条件下)マウス系統であるが、下降濃度テストを行うと、コントロール食/高脂肪食のいずれを摂取していても、かつおだし嗜好性は著しく増加する ¹²⁾。しかし、高スクロース食/低たんぱく質食/高たんぱく質食の摂取が、C57BL/6N マウスのかつおだし摂取量と嗜好性にどのような影響を与えるかについては明らかになっていない。さらに、他系統マウスでも C57BL/6N マウスと同様の行動変化が認められるかについては研究が行われていない。

本研究では、2系統のマウス (C57BL/6N および ICR) に脂肪 (ラード)、炭水化物 (スクロース)、あるいはたんぱく質 (カゼイン) の含有量を変化させた飼料を自由摂取させて、

かつおだし嗜好性に及ぼす影響を検討した。さらに、かつおだし提示順序の影響についても 検討した。

2. 材料および方法

2.1. 動物

雄性 C57BL/6NCrlCrlj マウス (12 週齢、日本チャールス・リバー) および雄性 Crl:CD1(ICR) マウス (7 週齢、日本チャールス・リバー) を使用した。C57BL/6NCrlCrlj マウス (近交系マウス) は体重増加が非常に遅く、12 週齢で約 22g に達した。一方、ICR マウス (クローズドコロニーマウス) は成長が非常に早く、7 週齢で約 33g まで達し、C57BL/6NCrlCrlj マウスと同じ 12 週齢まで待ってから実験を行うと体重差が大きく開くと予想されたため、若い週齢(7 週齢)で実験を始めた。C57BL/6N マウスを、コントロール食群、高脂肪食群、高スクロース食群、低たんぱく質食群、および高たんぱく質食群の5群にランダムに分けた(各群 N=8)。また、ICR マウスについても、コントロール食群 (N=9)、高脂肪食群(N=8)。あた、ICR マウスについても、コントロール食群(N=9)、高脂肪食群(N=9)の5群にランダムに分けた。ICR マウスについては、さらに下降濃度テスト群(最も高い濃度から提示し、最も低い濃度に向かって徐々に濃度を下降させる濃度系列群; N=10)も設定した。動物に、飼料および水を自由に与え、 23 ± 1 °C、12時間:12時間の明暗サイクル(明期 07:00-19:00)の飼育室で飼育した。実験は、京都大学動物実験委員会の承認(承認番号 22-60)を受け、動物実験指針に基づき実施した。

2.2. 飼料

Research Diets 社(New Brunswick, NJ, USA)の齧歯類用コントロール食(#D12450B)、高脂肪食(#D12451;カロリーベースで 45%の脂肪を含む飼料)、高スクロース食(#D11511;カロリーベースで 67.7%の炭水化物、66.6%のスクロースを含む飼料)、低たんぱく質食(#D10062201;カロリーベースで 5%のたんぱく質を含む飼料)、および高たんぱく質食(#D10062202;カロリーベースで 30%のたんぱく質を含む飼料)を使用した(表1)。コントロール食の CFP 比率(炭水化物:脂質:たんぱく質の比率)は、カロリーベースで 70:10:20であった。

2.3. かつおだし

本造り一番だしかつお (味の素株式会社) を使用した。この製品は、かつお節から成分を 熱水抽出した濃厚液体かつおだしであり、加熱乾燥(105°C、4 時間)後の固形分含量は約 4.0%であった。カロリーは 14 kcal/100 g で、主要栄養素組成は、たんぱく質 3.44%、灰分 0.8%、脂質と炭水化物は両者合わせても 0.1%未満であった。Na 含量は、127 mg/100 g (52 マウスのかつおだし嗜好性に及ぼす飼料組成の影響 近藤

mM) であった。本実験では、無希釈のかつおだしを濃度 100%と定義した。希釈かつおだし (0.001%~50%かつおだし) は、無希釈かつおだしを水 (水道水) で希釈することにより、毎日新しく調製して使用した。

2.4. 嗜好性試験法

動物に 5 日間コントロール食と水を自由に与え、さらに 5 日間実験食と水を与えて飼育した後に、嗜好性試験を開始した。試験には、48 時間二瓶選択嗜好性試験(二瓶法)を用い、最も一般的な方法である上昇濃度系列(最も低い濃度から提示し、最も高い濃度に向かって徐々に濃度を上昇させる濃度系列)に基づいて溶液を提示した。しかし、一部の試験(実験3;上昇濃度と下降濃度の比較試験)では下降濃度テストも行った。

二本のプラスチック製ボトル (15 ml) の片方に水を、もう片方にテスト水溶液 (かつおだし)を充填し、飲水チューブを接続した。ボトルを、飼育ケージの蓋に対して水平から約30 度の角度で挿入し、ゴムチューブで固定して、室温で動物に与えた。試験は、1種類の濃度につき2日間連続して行った。テストボトルの左右の位置を1日目と2日目で入れ替えることにより、位置嗜好性の影響を打ち消した。ボトルおよび飲水チューブは毎日取り外して洗浄し、乾燥させたものを使用した。また、試験水溶液は、毎日新しいものを調製し、動物に与えた。

水溶液摂取量は、上皿電子天秤(A&D社)を用いて小数点以下二桁まで測定し、パソコンに自動転送した。水溶液の毎日の蒸発量および実験操作によるこぼれ量を補正するため、空のケージに飲水ボトルをセットし、その平均変化量(約0.05 g/day)を溶液変化量から差し引いて、各ボトルの飲水量を求めた。

2.5. データ解析

各ボトルの摂取量として、2 日間の平均摂取量(g/day)を使用した。かつおだしの嗜好性(%)は、かつおだしの摂取量を、全水溶液(水およびかつおだし)の摂取量の総和で除算し、100 を掛けることにより求めた。データは平均値 \pm 標準誤差で示した。各濃度におけるかつおだし嗜好性の有意差は、one sample t-test を用いて、チャンスレベル(50%)との比較により検定した。嗜好性の閾値は、水より有意に好んで摂取した最も低いかつおだしの濃度と定義した。単純主効果(濃度、提示順序)の有意差は、SigmaPlot 14.5(ヒューリンクス、東京)を用い、一元配置または二元配置反復測定分散分析により検定した。上昇濃度テストと下降濃度テストにおける同濃度のかつおだし摂取量の有意差は、Student's t-test を用いて検定した。P<.05 で、統計学的に有意差ありと判断した。

表1 実験飼料の組成

	Control	High Fat (HF)	High Sucrose (HS)	Low Protein (LP)	High Protein (HP)
Caloric density (kcal/g)	3.8	4.7	3.9	3.8	3.8
Protein, kcal%	25	20	20.8	5	30
Carbohydrate, kcal%	70	35	67.7	85	60
Fat, kcal%	10	45	11.5	10	10
Ingredient, g					
Casein, 80 Mesh	200	200	200	50	300
L-Cystine	3	3	0	0.75	4.5
dl-Methionine	0	0	3	0	3
Corn Starch	315	72.8	0	527.25	313.5
Maltodextrin 10	35	100	0	75	35
Sucrose	350	172.8	650	250	250
Cellulose, BW200	50	50	50	50	50
Soybean Oil	25	25	0	25	25
Lard	20	177.5	0	20	20
Corn Oil	0	0	50	0	0
Mineral Mix S10026	10	10	0	10	10
DiCalcium Phosphate	13	13	0	13	13
Calcium Carbonate	5.5	5.5	0	5.5	5.5
Potassium Citrate, H ₂ O	16.5	16.5	0	16.5	16.5
Mineral Mix S10001	0	0	35	0	35
Vitamin Mix V10001	10	10	10	10	10
Choline Bitartrate	2	2	2	2	2
FD&C Yellow Dye #5	0.05	0	0	0	0.025
FD&C Red Dye #40	0	0.05	0	0.025	0.025
FD&C Blue Dye #1	0	0	0	0.025	0
Total	1055.05	858.15	1000	1055.05	1055.05

FD&C, Federal Food, Drug, and Cosmetic Act.

3. 結果

3.1. C57BL/6N マウスにおけるかつおだし摂取量と嗜好性

前報 ¹²⁾において、C57BL/6N マウスのかつおだし嗜好性は飼料によって異なることを報告した。すなわち、コントロール食摂取条件下ではわずかに水より好んで摂取し、高脂肪食摂取条件下では水と同様の嗜好性を示した。本研究において、C57BL/6N マウスに、コントロール食または高脂肪食を与えた結果、全溶液(水+かつおだし)摂取量は約 2g/day であり(図 1Aa,b)、幅広い濃度(0.1~100%)のかつおだしに対して、いずれの群も有意な嗜好性変化を示さなかった(図 1Ba,b)。さらに、高スクロース食群、低たんぱく質食群、高たんぱく質食群においても、コントロール群と同様、幅広い濃度のかつおだしに対して有意な嗜好性変化を示さなかった(図 1Bc-d)。このように、標準的な方法(上昇濃度テスト)で調べた場合、C57BL/6N マウスのかつおだし嗜好性は、かつおだしの濃度によって変化せず、飼料の影響も受けないことが示された。

なお、低タンパク質食群において、 $0.1\%\sim1\%$ かつおだしを与えた場合は、他の試験群に 比べて全溶液摂取量が少なかった(半分程度の $1\,\mathrm{mL}$ であった)(図 $1\mathrm{Ad}$)。しかし、2%以上 のかつおだし摂取により、全溶液摂取量は著しく回復した。

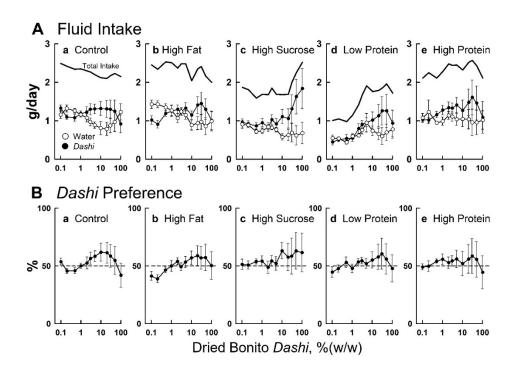


図1 C57BL/6N マウスにおける溶液摂取量とかつおだし嗜好性に及ぼす飼料組成の影響 A、溶液摂取量。〇は水摂取量、 \blacksquare はかつおだし摂取量、折線は全溶液摂取量を示す。 B、かつおだし嗜好性。データは平均値 \pm 標準誤差で示した。各群 N=8。

3.2. ICR マウスにおけるかつおだし摂取量と嗜好性

C57BL/6N マウスは幅広い濃度のかつおだしに対して嗜好性を示さなかった(図1)ことから、他系統マウスのひとつである ICR マウスを用いてかつおだし嗜好性における濃度と飼料との関係を調べた。

その結果、コントロール食群は、かつおだし濃度に依存して有意な嗜好性変化を示した (F(11,88) = 10.553, P < .001)(図 **2Ba**)。低濃度(0.1%および 0.5%)では忌避を示したが、 10%以上の濃度ではかつおだしを水より好んで摂取した (P < .05, P < .01,または P < .001)。 高スクロース食群(F(11,77) = 18.825, P < .001)および高たんぱく質食群(F(11,88) = 79.49, P<.001) も、コントロール食群と同様に、かつおだし濃度に依存して嗜好性変化を示した (図 2Bc, e)。なお、高たんぱく質食群では、低濃度かつおだしに対する忌避が認められな かった。一方で、高脂肪食群 (F(11,77)=3.666,P>.05) および低たんぱく質食群 (F(11,88) =2.113, P>.05) では、濃度依存的なかつおだし嗜好性の変化が認められなかった(図 2Bb、 d)。各濃度で嗜好性変化を調べると、高脂肪食群では、低濃度のかつおだし (0.2%および 1%)を有意に忌避し、水より有意に好んで摂取する濃度は認められなかった。低たんぱく 質食群では、5%かつおだしにおいて有意な嗜好性の増加が認められた。しかし、その他の 濃度では有意差が認められなかった。以上の結果から、ICR マウスのかつおだし嗜好性は、 C57BL/6N マウスとは異なり、飼料組成の影響を受けることが明らかになった。すなわち、 コントロール食、高スクロース食、および高たんぱく質食を摂取した条件下では、かつおだ し嗜好性の濃度依存的変化が認められたが、高脂肪食または低たんぱく質食を摂取した条 件下では、かつおだし濃度に依存した嗜好性変化が認められなかった(嗜好性発現が抑制さ れた) (**図 2Ba-e**)。

なお、低たんぱく質食群において、0.1%~1%かつおだしを与えた時の全溶液摂取量は、 他の試験群と同様であった(図 2Ad)。すなわち、C57BL/6Nマウス(図 1Ad)とは異なり、 全溶液摂取量の低下が認められなかった。しかし、C57BL/6Nマウスと同様に、2%以上のか つおだし摂取により全溶液摂取量は著しく増加した。

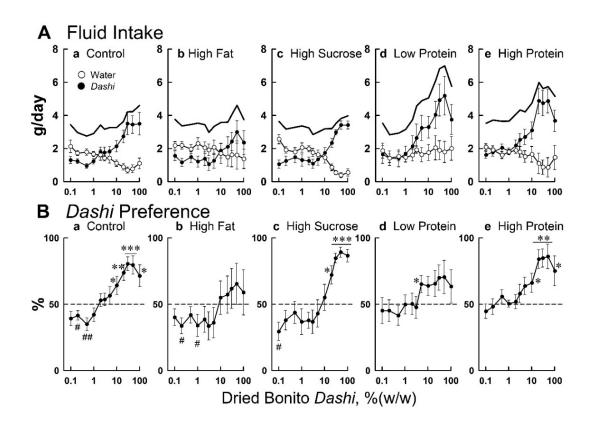


図2 ICR マウスにおける溶液摂取量とかつおだし嗜好性に及ぼす飼料組成の影響

A、溶液摂取量。〇は水、 \blacksquare はかつおだしの摂取量、折線は全溶液摂取量を示す。 B、かつおだし嗜好性。*P<.05,**P<.01,***P<.001, チャンスレベル(50%)に比べて有意な増加。*P<.05,**P<.01, チャンスレベルに比べて有意な減少(忌避)。データは平均値 \pm 標準誤差で示した。各群 N=8-9。

3.3. かつおだし嗜好性に及ぼすかつおだし提示順序の影響

前報 ^{12,13)} において、コントロール食を摂取した動物 (Sprague-Dawley ラット、C57BL/6N マウス) におけるかつおだし嗜好性は、上昇濃度テストに比べて下降濃度テストで著しく増加することを報告した。そこで、ICR マウスでも同様に調べた。

その結果、下降濃度テストでは、上昇濃度テストに比べて、低濃度(0.2%~10%)のかつおだし摂取量が有意に増加した(P<.05またはP<.01)(図 3A)。かつおだし嗜好性の閾値は、上昇濃度テストが10%であったのに対し、下降濃度テストでは0.2%に低下した(図 3B)。すなわち、閾値が 50 倍低下した。二元配置分散分析の結果、濃度(F(11,187)=11.004, P<.001)、提示順序(F(1,17)=6.607, P<.05)、および交互作用(F(11,187)=2.870, P<.01)に有意差が認められた。また、もう1つの大きな特徴として、下降濃度テストでは、低濃度かつおだしに対する忌避がまったく認められなかった。このように、ICR マウスにおいても、下降濃度テストではかつおだし嗜好性が著しく増加することが示された。

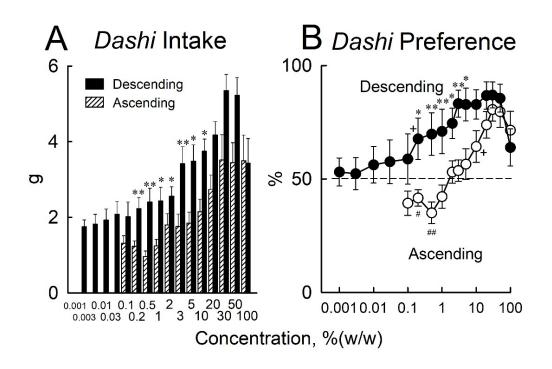


図3 ICR マウスにおける、かつおだし提示順序がかつおだし嗜好性に及ぼす作用

ICR マウスにコントロール食を与えて、かつおだしの提示順序を上昇濃度テストと下降濃度テストで比較した。A,上昇濃度テスト(斜線バー)および下降濃度テスト(黒バー)におけるかつおだし摂取量(g/day)の比較。B,上昇濃度テスト(〇)と下降濃度テスト(\blacksquare)におけるかつおだし嗜好性(%)の比較。*P<.05,**P<.01,上昇テストと下降テストの間の有意差。+,かつおだし嗜好性の閾値。*P<.05,**P<.01,チャンスレベルに比べて有意な減少(忌避)。比較のため、上昇濃度テストのデータは、図2から引用した。データは平均値 ± 標準誤差で示した。各群 N=9-10。

マウスのかつおだし嗜好性に及ぼす飼料組成の影響 近藤

4. 考察

本研究により、かつおだし嗜好性は、マウス系統および飼料組成の影響を受けることが示された。たとえば、C57BL/6N マウスはいずれの飼料を用いてもかつおだしを水と同程度摂取したが、ICR マウスは特定の飼料(コントロール食、高スクロース食、高たんぱく質食)を与えて飼育すると、濃度依存的にかつおだしを好んで摂取した。この ICR マウスの行動は、コントロール食あるいは高たんぱく質食を与えて飼育した SD ラットのかつおだし摂取行動 ¹³⁾ と似ていた。ただし、SD ラットの場合は低濃度かつおだしを強く忌避したのに対して、ICR マウスの場合はわずかに忌避した程度であった。一方、ICR マウスにおいて、下降濃度テストにおけるかつおだし嗜好性の閾値は、上昇濃度テストの場合に比べて著しく(50倍)低下した。コントロール食摂取条件下における閾値の低下は、SD ラットで 330 倍、C57BL/6N マウスで 3,000 倍であると報告されている ¹²⁾。種や系統によって閾値低下の大きさは異なるものの、かつおだしの提示順序がかつおだし嗜好性に大きく影響する点に関しては、いずれの動物でも同じであった。このように、かつおだし嗜好性は、かつおだしの濃度以外にも、動物種、系統、かつおだしの提示順序、飼料組成によって変化することが示された。とくに、かつおだしの摂取経験がかつおだし嗜好性に強く影響すると考えられる ¹⁰⁻¹⁴。

4.1. かつおだし嗜好性に及ぼす飼料組成の影響

ICR マウスのかつおだし嗜好性は、高脂肪食あるいは低たんぱく質食の摂取により低下したが、高たんぱく質食の摂取では影響されなかった(高たんぱく質食摂取条件下では、わずかにかつおだし嗜好性の増加傾向が認められた)。この結果は SD ラット ¹³⁾ と同様であった。一方で、高スクロース食摂取の影響は、動物系統により異なった。すなわち、ICR マウスではかつおだし嗜好性に影響しなかったが、SD ラットでは著しく抑制した ¹³⁾。これらの飼料組成の変化による行動変化のメカニズムは不明である。しかし、嗜好性実験に入る前の実験飼料の摂取は比較的短期間(5 日間)であったため、肥満ややせによるものではない。おそらく、高脂肪食や低たんぱく質食の摂取により代謝が変化し、その結果行動が変化したものと考えられる。ただし、ある栄養素の飼料組成を変化させる操作は、他の栄養素の増減を伴うため、目的外の組成の変化による影響についても注意を払う必要がある。たとえば、本実験において、低たんぱく質食は、コントロール食に比べてでんぷん含量が増加しスクロース含量が減少した飼料でもある。完全にひとつの組成だけを変化させることはできないため、厳密にはいろいろな組成の飼料を使った実験を組合わせて、慎重に結論を導く必要がある。

飼料組成を変化させた実験において、注目すべき点のひとつに、忌避の減少(消失)がある。コントロール食群は、低濃度のかつおだしに対して忌避を示したが、高たんぱく質食群は、忌避を示さなかった。同様の結果は SD ラットでも報告されている ¹²⁾。したがって、低濃度かつおだしに対する不快感は、高たんぱく質摂取条件下で消失すると考えられる。なお、

低濃度かつおだしに対する忌避が消失するもうひとつの実験条件として、かつおだしの摂取経験が挙げられる。SD、C57BL/6N、ICRのいずれの動物系統においても、下降濃度テストを行うと、低濃度かつおだしに対する忌避がまったく生じない^{12,13)}。すなわち、飼料組成の影響は下降濃度テストで打ち消すことが可能である。下降濃度テストでは、最初に最も高い濃度を摂取するため、かつおだしの風味(味、におい、食感)と摂取後効果との連合学習を成立させるためであると考えられる(後述を参照)。

4.2. 下降濃度テストにおけるかつおだし嗜好性の増加

濃度と嗜好性との関係を調べるテストでは、上昇濃度テストを用いるのが一般的である。しかし、C57BL/6Nマウスの場合、上昇濃度テストを用いると、かつおだし嗜好性の変化を観察することができない。そこで、大きな嗜好性変化を示す実験条件がないか模索した結果、下降濃度テストがひとつの最適な方法であることが明らかになった「12」。たとえば、コントロール食摂取条件下の C57BL/6N マウスにおいて、上昇濃度テストにおけるかつおだし嗜好性閾値は 30%であったのに対し、下降濃度テストでは 0.01%に低下する(すなわち、3,000倍の閾値低下)「12」。下降濃度テストでは、上昇濃度テストに比べて著しく閾値が低下するだけでなく、かつおだしの摂取量と嗜好性も著しく増加する。さらには、低濃度かつおだしに対する忌避も認められない。これらの変化は、SD ラットでも同様である「12」。本研究により、ICR マウスでもこれら動物系統と同様の変化が認められることを示した。すなわち、少なくとも齧歯類において普遍的に認められる現象である可能性が高いと考えられる。

ICR マウスにおける閾値低下(50 倍)は、SD や C57BL/6N における変化に比べると小さいが、これまでに報告されている他の栄養素の変化に比べるとはるかに大きい。たとえば、C57BL/6J マウスおよび 129P3/J マウスにおいて、下降濃度テストでは、上昇濃度テストに比べてスクロース嗜好性の閾値が低下するが、その変化はわずか 4 倍である(すなわち約 4 倍嗜好性の感受性が増加する)¹⁵⁾。人工甘味料であるサッカリンでは、このような変化が生じない ¹⁵⁾。これらの結果は、高濃度のかつおだしを摂取した経験が、その後のかつおだし嗜好性に大きく影響する可能性を示している。また、上昇濃度テストにおいて動物が低濃度かつおだしに対する嗜好性を示さない(むしろ忌避した)のは、かつおだしの味やにおいが分からないからではなく、かつおだしの有用性(生物学的価値)が分からなかったためと考えられる。すなわち、かつおだしがもつ三次機能(有用性、機能性;後述を参照)を経験したことがなかったため、かつおだしに興味を示さなかった可能性が考えられる。スクロースやサッカリンは、甘味を呈するがにおいは呈さない。それに対して、かつおだしは複数の成分から構成されることで、うま味、酸味、苦味などの複数の味覚に加えて、多種多様のにおいも示す ¹⁶⁾。この複雑性が、下降濃度テストにおける嗜好性の大きな変化に関与している可能性が考えられる。

4.3. 摂取経験に基づくかつおだし嗜好性の増加

かつおだしは、酸味成分(乳酸)と苦味成分(ヒスチジン、クレアチン、クレアチニン、 アンセリン、カルノシンなど)を多く含み、うま味成分(イノシン酸)も少量含むが、甘味 成分、塩味成分、および脂肪の含有量は非常に少ない⁹⁾。うま味成分の代表であるグルタミ ン酸の含有量もごくわずか(固形分の 1/1,000 程度)である。したがって、かつおだしの化 学組成を分析しても、和食に欠かせない理由を理解することは難しい。これまでの研究結果 ¹⁰⁻¹⁴⁾ および本研究結果により、かつおだしの嗜好性は、複数の因子(動物系統、飼料、かつ おだしの提示方法、かつおだしの摂取経験)によって変化する。それら因子の中で最も著し くかつおだし嗜好性を増加させた因子は、かつおだしの提示方法/摂取経験であった。した がって、食経験に基づく著しい嗜好性増加の根底には、食品や栄養素の機能性を経験・学習 することが関わっていると予想される ³⁾。実際に、C57BL/6N マウスにおいて、イノシン酸 の摂取経験があると、その後のかつおだし嗜好性が著しく増加する ¹⁴。グルタミン酸ナト リウム、NaCl、グルコース、乳酸、およびヒスチジンの摂取経験はかつおだし嗜好性に影響 しない ¹⁴。 さらには、かつおだしにはさまざまな機能性が報告されている。たとえば、人 では、肩こり¹⁷⁾、眼精疲労¹⁸⁾、乾燥肌と荒れ肌¹⁹⁾、疲労感・活力・緊張不安などの精神状 態 ²⁰⁾を改善し、潜在的攻撃性 ²¹⁾ を抑制する。マウスやラットでは、抗疲労作用 ²²⁾、抗不安 作用²³⁾、攻撃行動の低下^{24,25)}、うつの抑制作用²⁴⁾が報告されている。かつおだしをラット の胃内に投与すると、前脳および脳幹部の特定部位の活動が増加する²⁶⁾。これらの結果は、 かつおだしを摂取すると脳に情報が伝わり、その結果、情動行動を含むさまざまな行動変化 が生じることを示している。したがって、たとえ酸味や苦味が強くても、かつおだしを摂取 して何らかの摂取後効果を経験した動物では、口腔内感覚と摂取後効果との関連性を強化 学習(連合学習)するため、希釈した(低濃度の)かつおだしに対する強い嗜好性を引き起 こすことが可能になると考えられる。このような変化を引き起こすためには、比較的高濃度 (少なくとも 10%以上) のかつおだしを摂取することが必要であり、低濃度のかつおだし では効果が生じないと考えられる。

だしは和食の基本であるが、和食に欠かせない(他のものに置き換えることが難しい)理由について合理的な説明をすることが難しかった。本研究を含めた一連の研究成果により、世界の中でも日本人がだしを強く好む理由として、子供の頃からだしを飲む習慣があったことにより、だしの風味と健康効果との関連性を連合学習した可能性が大きいと推測される。だしを好む外国人がいる理由も、だしの摂取経験で説明できるものと思われる。これらの推測については、今後さらなる検討が必要である。

5. 要約

ラットにおいて、かつおだしの摂取量と嗜好性は、高脂肪食、高スクロース食、および低たんぱく質食の摂取条件下で減少し、高たんぱく質食の摂取条件下では影響されないことが報告されている。本研究では、2系統マウス (C57BL/6N および ICR) を使って、同じ実験条件で調べた。嗜好性は、標準的な方法 (48 時間 2 瓶選択上昇濃度テスト)を用いて測定した。コントロール食を摂取した C57BL/6N マウスは、広範囲の濃度 (0.1-100%かつおだし)に反応せず、この行動は飼料組成を変化させても影響を受けなかった。一方で、ICR マウスの対照群は、低濃度 (0.1~2%)のかつおだしに対して忌避を示したが、高濃度 (10~100%)に対しては水より好んで摂取した。同様の行動は、高スクロース食あるいは高たんぱく質食を摂取した ICR マウスでも認められたが、高脂肪食あるいは低たんぱく質食の摂取下ではほぼ消失し、水と同様の行動を示した。この高脂肪食あるいは低たんぱく質食の作用は、SD ラットの結果と同様であった。一方で、ICR マウスにおいても、下降濃度テストでかつおだし嗜好性の閾値の低下 (50 倍の低下)が認められた。以上の結果から、飼料組成の変化によるかつおだし嗜好性への影響は、マウス系統によって異なること、および ICR マウスの行動変化は SD ラットの行動変化に近いことが示された。嗜好性増加のメカニズムとして、かつおだしの健康機能を経験・学習することが関与している可能性が考えられた。

6. 引用文献

- 1) 堀越昌子(2011) ふなずし なれずし おいしさの体験は受け継がれる、おいしさの科 学 Vol.2 熟成 豊かなるスローフードの世界、エヌ・ティー・エス、東京、pp.34-41.
- Berthord HR, Morrison CD, Ackroff K, Sclafani A (2021) Learning of food preferences: mechanisms and implications for obesity & metabolic diseases. *International Journal of Obesity* 45: 2156–2168.
- 3) 近藤高史 (2014) 食べ物の好き嫌いと健康—苦くても必要な栄養素は取れるように嗜好性が増加、生物の科学 遺伝 **68**: 445-451.
- 4) Tabuchi E, Ono T, Nishijo H, Torii K (1991) Amino acid and NaCl appetite, and LHA neuron responses of lysine-deficient rat. *Physiology & Behavior* **49**: 951–964.
- 5) 高橋英一(2006)だしの基本と日本料理 うま味のもとを解きあかす、柴田書店、東京、pp. 4-5.
- 6) Many contributors (2009) Dashi and Umami The heart of Japanese cuisine (Takahashi Y ed), Eat-Japan/Cross Media Ltd, London, UK.
- 7) 河野一世 (2009) だしの秘密—みえてきた日本人の嗜好の原点—、建帛社.
- 8) 熊倉功夫、的場輝佳 (2012) 日本のだしについて、だしとは何か、アイ・ケイ コーポレーション、東京、pp. 60-78.
- 9) 福家眞也,渡辺勝子,酒井久視,鴻巣章二 (1989) かつお節のエキス成分、日本食品工業学会誌 **36**: 67-70.
- 10) 近藤高史,松永哲郎,中村和弘,堀悦郎,西条寿夫(2011)かつおだし嗜好性における 学習の関与、日本味と匂学会誌 **18**: 301-302.
- 11) 近藤高史 (2012) だしのプラスαに着目 カギは学習の関与と機能性、おいしさの科学 Vol.4 だしと日本人 生きていくための基本食 (田中美智子編)、エヌ・ティー・エス、東京、pp. 16-20.
- 12) Kondoh T, Matsunaga T (2020) Intake and preference for dried bonito *dashi* in male Sprague-Dawley rats and C57BL/6N mice. *Physiology & Behavior* **213**: 112708.
- 13) 近藤高史 (2021) ラットのかつおだし嗜好性に及ぼす飼料中の砂糖およびたんぱく質含量の影響、近畿大学農学部紀要 **54**: 1-17.
- 14) Kondoh T (2023) Enhanced preference for dried bonito *dashi* by prior experience with *dashi* and various taste substances in mice. *Physiology & Behavior* **261**: 114084.
- 15) Sclafani A (2006) Enhanced sucrose and polycose preference in sweet "sensitive" (C57BL/6J) and "subsensitive" (129P3/J) mice after experience with these saccharides. *Physiology & Behavior* 87: 745–756.
- 16) 川口宏和 (2005) かつおだしのおいしさ解析と商品開発への応用~香りの解析からのア プローチを中心に~、日本味と匂学会誌 **12**: 123-130.
- 17) Nozawa Y, Ishizaki T, Kuroda M, Takahashi K, Ebihara S, Itoh T (2007) Ingestion of dried-bonito

- broth ameliorates blood fluidity in humans. Journal of Health Science 53: 543-551.
- 18) Honda M, Ishizaki T, Kuroda M (2006) The effect of dried skipjack soup stock on visual fatigue. Journal of the Jpnanese Society for Food Science and Technology **53**: 443–446.
- 19) Yamada K, Ishizaki T, Kuroda M, Kajimoto O, Kawagishi R (2006) The effect of dried-bonito soup stock intake on drying and roughage of skin. *Journal of Nutrtional Food* 9: 53–62.
- 20) Kuroda M, Nozawa Y (2008) Effect of dried-bonito broth on mood states: a pooled analysis of four randomized controlled human trials. *Biomedical Research* **29**: 175–179.
- 21) Nishijo M, Pham TT, Pham NT, Duong HTT, Tran NN, Kondoh T, Nishino Y, Nishimaru H, Do QB, Nishijo H (2021) Nutritional intervention with dried bonito broth for the amelioration of aggressive behaviors in children with prenatal exposure to dioxins in Vietnam: a pilot study. *Nutrients* 13: 1455.
- 22) Murakami H (2004) Fatigue-recovering effect of bonito extract. Kagaku to Kogyo 57: 522-524.
- 23) Funatsu S, Kondoh T, Kawase T, Ikeda H, Nagasawa M, Denbow DM, Furuse M (2014) Long-term consumption of dried bonito *dashi* (a traditional Japanese fish stock) reduces anxiety and modifies central amino acid levels in rats. *Nutritional Neuroscience* **18**: 256–264.
- 24) Jargalsaikhan U, Nishimaru H, Matsumoto J, Takamura Y, Nakamura T, Hori E, Kondoh T, Ono T, Nishijo H (2017) Ingestion of dried-bonito broth (*dashi*) facilitates PV-parvalbumin-immunoreactive neurons in the brain, and affects emotional behaviors in mice. *Nutritional Neuroscience* 20: 571–586.
- 25) 近藤高史、小野武年、西条寿夫(2017) かつおだしが攻撃行動を低下させる仕組み、日本醸造協会誌 **112**: 812-821.
- 26) Kondoh T, Yoshimura M, Sonoda S, Fujihara H, Matsunaga T, Ueta Y (2019) Induction of Fos expression in the rat brain after intragastric administration of dried bonito *dashi*. *Nutritional Neuroscience* 24: 688–696.