

令和元年6月18日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11043

研究課題名(和文) 味細胞 味神経間の伝達物質の解明

研究課題名(英文) Elucidation of neuro transmitters between taste cell and taste nerves

研究代表者

安松 啓子 (Yasumatsu, Keiko)

九州大学・五感応用デバイス研究開発センター・特任准教授

研究者番号：50380704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪酸の味、塩味、うま味などの伝達物質について、神経生理学的手法を用いて明らかにすることが本研究課題の目的である。単一神経応答を記録しながら、基本味のうちどれに応答するかプロファイルを見た後、大腿静脈に設置するカニューレより試薬を静脈投与し、伝達物質は何の味を伝えるかを調べた。その結果、T1Rsの関与するうま味の伝達物質は甘味と同様にGLP-1、酸味の伝達物質としてセロトニン、苦味はCCKであることが判明した。また、脂肪酸に応答を示す味神経の解析も進み、GLP-1が伝達する可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪酸の味、うま味は甘味と共に体に必要なカロリーをもたらすシグナルであるとともにその摂りすぎによって肥満や糖尿病などの原因になる。塩味の摂りすぎも血圧、心臓、腎臓への悪影響がある。このような味は実際、その美味しさのために摂りすぎるのが問題となっている。これらの味の伝達物質について、神経生理学的手法を用いて明らかにすることが本研究課題の目的であるが、それは生活習慣病の成因とも関連する栄養情報の味物質と塩味物質の摂取に関する経路を明らかにすることでもあり、摂食調節への味覚の役割を明らかにする上で欠かせない。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to clarify neurotransmitters between taste cells and taste nerves for salty taste, umami and fatty acids using neurophysiological methods. After determination of the best stimulus among basic taste solutions, single fiber responses were recorded while neurotransmitter reagents were intravenously administered from a cannula placed in the femoral vein. The results were shown that umami taste via T1Rs transmitted by GLP-1 like sweet taste, and that serotonin is a transmitter for sour taste. We also reported CCK as a transmitter for bitter taste. In addition, analysis of taste nerves responding to fatty acids progressed in the present research period and, it was suggested that there is a possibility that GLP-1 may be a transmitter for fat taste.

研究分野：口腔生理学

キーワード：味覚 鼓索神経 うま味 塩味 酸味 苦味 脂肪味 伝達物質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究開始時における味覚の受容と情報伝達のメカニズムは以下のように報告されていた。

甘味：受容体 T1R2+T1R3 には G ガストデューションが共役し、IP₃R3, TRPM5 による Na 流入を経て ATP が伝達物質。

うま味：受容体 T1R1+T1R3, mGluR1, mGluR4 から T1Rs の下流は甘味と同様に伝達される。

苦味：受容体 T2Rs (25 種類) に G ガストデューションが共役し、IP₃R3, TRPM5 による Na 流入を経て ATP が伝達物質。

塩味：ENaC や TRPV1 から Na⁺イオンの細胞内流入後、電位依存性 Na チャネル、Ca チャネルにより活動電位が発生する。伝達物質は不明。

酸味：H⁺イオン流入と細胞内酸化が起こる。伝達物質についてはセロトニン、GABA、ノルエピネフリンが示唆されている。

脂肪酸：GPR40, GPR120, CD36 などの受容体から細胞内伝達には II 型味細胞共通の TRPM5 が考えられる。脂肪酸の味が他の味と独立しているかは不明で、伝達物質も不明。

このように味覚受容体や細胞内伝達分子の発見と共に、味細胞から神経への伝達機構は最先端の研究であった。しかしながら、用いられる実験方法は、動物の味蕾を上皮ごと剥離し、上皮側から味刺激を与え、基底面のメディアムに放出された物質の濃度を測定する方法や、ハムスターの卵母細胞に分泌物の受容体を発現させたバイオセンサーを用いて検出する方法で、自己分泌や傍分泌を含んで検出するために、伝達物質の正確な情報は得られなかった。

2. 研究の目的

脂肪酸の味、塩味、うま味などの伝達物質について、神経生理学的手法を用いて明らかにすることが本研究課題の目的である。生活習慣病の成因とも関連する栄養情報の味物質と塩味物質の摂取に関与する経路を明らかにすることで、摂食調節への味覚の役割を明らかにするという意義がある。

3. 研究の方法

(1) マウス鼓索神経 全線維束の血管経由伝達物質に対する応答の記録

C57BL/6J マウスを麻酔下(ペンタバルビタール 40mg/kg, ip)で鼓索神経を通法にしたがい剖出し、銀塩化銀電極に乗せる。不関電極は周囲組織に装着し、左大腿静脈に薬液シリンジとつながるカニューレを装着する。自発発火を記録しながら、大腿静脈に伝達物質候補をおよそ 60µM/min の速度で注入し、自発発火の増減を解析する。

(2)(1)で有意な反応が見られた薬液を選定し、単一神経記録に用いる。麻酔下で剖出したマウス鼓索神経を箒状に分離し、電極に乗せる。当該神経が基本味溶液のどれに反応するかを確認後、活動電位インパルス記録しながら大腿静脈に薬液を注入する。このような方法で数十本の神経を記録し、それぞれの味に対する伝達物質が決定されていく。必要に応じて受容体のブロッカーを味溶液に混合して記録する。

(3) 伝達物質とその受容体の発現については必要に応じて mRNA の検索かタンパクの免疫組織化学法による検索を行う。

4. 研究成果

実験 1 . 試薬テストとして、マウス鼓索神経 全線維束の血管経由伝達物質に対する応答を記録した。試験に用いた物質と投与量は serotonin: 10-200 µg/kg、NPY: 50, 100 µg/kg、GLP-1: 10-40 µg/kg、ATP: 0.01-2mg/kg で、このうち自発発火電位と薬物投与後の電位を計測したところ、serotonin: 100, 200 µg/kg、NPY: 50, 100 µg/kg、GLP-1: 20-40 µg/kg、ATP: 0.3-2mg/kg 投与により有意な電位の上昇が見られた。

実験 2 単一神経応答を記録しながら、基本味のうちどれに反応するか プロファイルを見た後、大腿静脈に設置するカニューレより試薬を静脈投与し、伝達物質は何の味を伝えるかを調べた。その結果、鼓索神経線維のうち HCl に最も高いインパルス頻度を示す神経 (E-type) を記録中にマウス大腿静脈より 100 µg/kg の Serotonin を投与したところ、およそ 75% の神経が投与開始約 63 秒後に有意な応答 (刺激時のインパルス頻度 > 無刺激時インパルス頻度 + 2SD) を見せた。一方 NaCl に特異性が高く、アミロライドによって抑制を受ける線維群 (N-type) では現在 Serotonin に応答する線維は見いだせない。うま味に関しては、記録したグルタミン酸に最も高い応答を示す線維 (M-type) のうち約 50% (14 本中 7 本) の神経が静脈投与した 20 µg/kg の GLP-1 に有意な応答を示した。次に GLP-1 に応答を示す神経線維が結合する味細胞には T1R1+T1R3, mGluR1, mGluR4 のいずれが 発現し機能しているかを調べるために、MPG に mGluR1, mGluR4 のアンタゴニストである AIDA と CPPG をそれぞれ 1mM 添加し舌を刺激したところ、これらのアンタゴニストにより抑制を受けない神経が GLP-1 に応答を示した。この結果から、mGluR1, mGluR4 以外のうま味受容体である T1R1+T1R3 もしくはそのどちらかが発現する味細胞の神経伝達物質は GLP-1 であることが示唆された。

さらに CCK について味細胞からの伝達物質の可能性を詳細に検証した。鼓索神経全線維束の積分波形を記録しながらマウス大腿静脈より 0.1 100 µg/kg の CCK 8 を投与したところ、濃度依存的に相対応答値が上昇した。CCK-A 受容体、CCK-B 受容体 knockout マウスの鼓索神経およ

び舌咽神経全線維束応答では、HCl、NaCl、MPG、シヨ糖応答は正常型(WT)マウスと比べ有意な差は無かったが、キニーネ、デナトニウムに関しては有意に小さかった。20mM キニーネ HCl に対し最も高い応答頻度を示す鼓索神経線維群が CCK 8 の静脈内投与に対し有意な応答を見せた。脂肪酸の味覚に関して最近、他の味とは独立して伝える神経が鼓索神経味覚線維において約 2 割弱の割合で存在することを代表者らは報告した。同時に甘味・うま味応答神経の中の半数以上が脂肪酸に応答したが、これらの鼓索神経線維群も GLP-1 の血中投与に応答した。これは消化管における脂肪酸センシング機構と類似性が高いと考えられる。CCK も GLP-1 も II 型細胞から分泌すると考えられるが、これらと ATP との関連は明らかになっておらず今後の課題と言える。

実験 3 . 免疫組織化学法による組織の検索では、茸状乳頭と有郭乳頭味蕾の半数以上の GLP-1 発現細胞が T1R3 と共発現していた。膝神経節の鼓索神経細胞体では GLP-1 受容体の発現が認められ、その神経細胞は ATP 受容体である P2X2 タンパクと共発現していた。これらの結果から GLP-1 が甘味・うま味の伝達物質であることが示唆された。

CCK については II 型味細胞マーカーである gustducin や PLC 2 と共発現しており、CCK 発現味細胞のうち約 3 割は T1R3 と共発現していた。これらの結果から、CCK が苦味情報を味細胞から味神経へ伝える伝達物質であることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

1. Niki M, Jyotaki M, Yoshida R, Yasumatsu K, Shigemura N, DiPatrizio NV, Piomelli D, Ninomiya Y. Modulation of sweet taste sensitivities by endogenous leptin and endocannabinoids in mice. *J Physiol*. 査読有り, 593(11), 2015, 2527-2545
2. Takai S, Yasumatsu K, Inoue M, Iwata S, Yoshida R, Shigemura N, Yanagawa Y, Drucker DJ, Margolskee RF, Ninomiya Y. Glucagon-like peptide-1 is specifically involved in sweet taste transmission. *FASEB J*. 査読有り, 29(6), 2015, 2268-2280
3. Yoshida R, Shin M, Yasumatsu K, Takai S, Inoue M, Shigemura, Takiguchi S, Nakamura S, Ninomiya Y. The Role of Cholecystokinin in Peripheral Taste Signaling in Mice. *Frontiers in Physiology*, 査読有り, 8, 2017, 866
4. 安松啓子、岩田周介、井上真由子、二ノ宮裕三. マウスの脂肪酸に対する行動応答および神経応答の解析. *日本味と匂学会誌*, 査読有り, 24 巻, 2017 年, 35-38
5. 岩田周介、安松啓子、井上真由子、吉田竜介、重村憲徳、二ノ宮裕三. アンジオテンシン II の T1Rs 非依存的甘味応答に及ぼす影響. *日本味と匂学会誌*, 査読有り, 24 巻, 2017 年, 31-34
6. Yasumatsu K, Iwata S, Inoue M, Ninomiya Y. Fatty acid taste quality information via GPR120 in the anterior tongue of mice. *Acta Physiologica*, 査読有り, 30, 2018, e13215

[学会発表](計 32 件)

1. 安松啓子、二ノ宮裕三, マウス鼓索神経における脂肪酸に対する単一神経応答の解析. 第 57 回歯科基礎医学会学術大会, 2015 年
2. 安松啓子、吉田竜介、實松敬介、重村憲徳、二ノ宮裕三, マウス鼓索神経における脂肪酸応答単一神経の記録, 日本味と匂学会第 49 回大会, 2015 年
3. 岩田周介、吉田竜介、安松啓子、重村憲徳、二ノ宮裕三, エンドカンナビノイドレセプターを介した自己増幅的な甘味応答の増強と T1R3 非依存性甘味受容経路. 日本味と匂学会第 49 回大会, 2015 年
4. 森田麻希、目片志亜、山村知暉、山本梨乃、牧野智咲、川村早苗、安松啓子、裕 哲崇, マウスは市販オレンジジュースの味を弁別できるか. 日本味と匂学会第 49 回大会, 2015 年
5. 重村憲徳、吉田竜介、安松啓子、大栗弾宏、岩田周介、高井信吾、上瀧将 史、仁木麻由、實松敬介、二ノ宮裕三, ホルモンによる味覚(塩味・甘味)感受性調節. 第 67 回日本生物工学会大会, 2015 年
6. 中野(安松)啓子, うま味受容細胞から神経への伝達物質の解明. 第 20 回うま味研究助成成果発表会, 2015 年
7. Matsumoto I, Ohmoto M, Lees J, Yasumatsu K, Ninomiya Y, Molecular mechanisms to generate the diversity of taste cells. ISOT Satellite Symposium on Taste: Basic Tastes and Moreover, 2016 年
8. Yoshida R, Yasumatsu K, Sanematsu K, Shigemura N, Ninomiya Y, Gustatory responses of taste receptor cells expressing fluorescent proteins in transgenic mice.

- 17th International Symposium on Olfaction and Taste, 2016 年
9. Takai S, Shigemura N, Yasumatsu-Nakano K, Inoue M, Iwata S, Yoshida R, Margolskee RF, Ninomiya Y, Glucagon like peptide-1, sweet taste and metabolic modulation of peripheral taste information. 17th International Symposium on Olfaction and Taste, 2016 年
 10. Yasumatsu K, Ito Y, Ohkuri T, Iwata S, Margolskee RF, Ninomiya Y, Analysis of sweet taste responses via SGLT1 in the mouse chorda tympani and glossopharyngeal nerves. 17th International Symposium on Olfaction and Taste, 2016 年
 11. 安松啓子、岩田周介、大栗弾宏、重村憲徳、二ノ宮裕三、マウス鼓索神経・舌咽神経における SGLT1 を介する甘味情報. 第 58 回歯科基礎医学会学術大会, 2016 年
 12. Yasumatsu K, Iwata S, Ohkuri T, Shigemura N, Margolskee RF, Ninomiya Y, Sweet taste information via SGLT1 in the mouse chorda tympani and glossopharyngeal nerves. Annual Scientific meeting of Monell Chemical Senses Center 2016, 2016 年
 13. 安松啓子, 味覚神経研究: 研究手法とストラテジー. 東京農業大学生体環境解析学特別講演, 2016 年
 14. 安松啓子、二ノ宮裕三、脂肪酸の感覚を伝えるための G タンパク共役型受容体とマウス鼓索神経における神経コーディング, 第 94 回日本生理学会大会, 2017 年
 15. 二ノ宮裕三、安松啓子、大栗弾宏、岩田周介、高井信吾、吉田竜介、重村憲徳、Margolskee RF, 口腔脳腸機能分子連関: グルコース輸送体を介する甘味受容伝達経路, 第 94 回日本生理学会大会, 2017 年
 16. Ninomiya Y, Yasumatsu K, Yoshida R, Takai S, Iwata S, Sanematsu K, Shigemura N, Margolskee RF. Multiple sweet taste signaling pathways in the mouse periphery. AChemS2017, 2017 年
 17. Ninomiya Y, Yasumatsu K, Yoshida R, Iwata S, Takai S, Shigemura N. Molecular, cellular and neural analyses of multiple sweet signaling pathways in the mouse periphery. 37th Blankenese Conferences, 2017 年
 18. Yasumatsu K, Iwata S, Inoue M, Ninomiya Y. Analyses of taste information pathways for fatty acids by neural and behavioral response measurements in mice. 27th ECRO, 2017 年
 19. 安松啓子, 口腔内の脂肪センシングメカニズムと今後の医療への期待. 第 59 回歯科基礎医学会学術大会, 2017 年
 20. 岩田周介、安松啓子、二ノ宮裕三、カプサイシンによるマウス鼓索神経応答への影響. 第 59 回歯科基礎医学会学術大会, 2017 年
 21. 重村憲徳、吉田竜介、實松敬介、高井信吾、岩田周介、安松啓子、二ノ宮裕三、塩味感受性とその可変性. 日本味と匂学会第 51 回大会, 2017 年, 神戸市
 22. 安松啓子、岩田周介、井上真由子、二ノ宮裕三、マウスの脂肪酸に対する行動応答および神経応答の解析. 日本味と匂学会第 51 回大会, 2017 年
 23. 岩田周介、安松啓子、井上真由子、吉田竜介、重村憲徳、二ノ宮裕三、アンジオテンシン II の T1Rs 非依存的甘味応答におよぼす影響. 日本味と匂学会第 51 回大会, 2017 年
 24. Yasumatsu K, Iwata S, Inoue M, Ninomiya Y, Information pathways for fatty acids via GPR120 in mouse chorda tympani nerve. The 16th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, 2017 年
 25. 安松啓子, 岩田周介, 二ノ宮裕三, マウス舌咽神経における脂肪酸に対する単一神経応答の解析. 第 60 回歯科基礎医学会学術大会, 2018 年
 26. 岩田周介, 安松啓子, 吉田竜介, 二ノ宮裕三, アドレノメデュリンによるマウス鼓索神経応答への影響. 第 60 回歯科基礎医学会学術大会, 2018 年
 27. Ninomiya Y, Yasumatsu K, Yoshida R, Iwata S, Shigemura N, Roles of sugar transporters and calorie sensors in taste cells. ECRO2018, 2018 年
 28. 安松啓子, 岩田周介, 井上真由子, 二ノ宮裕三, マウス舌咽神経単一神経記録による脂肪酸受容機構の解析. 日本味と匂学会第 52 回大会, 2018 年
 29. 岩田周介, 安松啓子, 井上真由子, 吉田竜介, 二ノ宮裕三, アドレノメデュリンのマウス鼓索神経応答への影響, 日本味と匂学会第 52 回大会, 2018 年
 30. Ninomiya Y, Yasumatsu K, Iwata S, Yoshida R, Novel taste sensory pathways for sugars and fatty acids in the mouse periphery. the 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019), 2019 年
 31. Yasumatsu K, Iwata S, Inoue M, Ninomiya Y, Fatty acid-responding neurons in mouse glossopharyngeal nerve. FAOPS2019, 2019 年
 32. Iwata S, Inoue M, Yasumatsu K, Yoshida R, Ninomiya Y, Adrenomedullin enhances chorda tympani nerve responses to sugars in mice. FAOPS2019, 2019 年

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

九大広報プレスリリース：脂肪酸が第 6 番目の基本味である証拠となる神経を新発見

https://www.kyushu-u.ac.jp/f/35081/19_02_05_01.pdf

研究成果：脂肪酸が第 6 番目の基本味である証拠となる神経を新発見

<https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/316>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8 桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：二ノ宮裕三、吉田竜介、Peihua Jiang、高井信吾、進美沙

ローマ字氏名：Yuzo Ninomiya, Ryusuke Yoshida, Peihua Jiang, Shingo Takai, Misa Shin

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。