

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11044

研究課題名(和文) 味蕾内レニン-アンジオテンシン系による塩味感受性調節機構の解明

研究課題名(英文) Renin-angiotensin system in peripheral taste organ

研究代表者

重村 憲徳 (Shigemura, Noriatsu)

九州大学・歯学研究院・教授

研究者番号：40336079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： 血圧調節ホルモン・アンジオテンシンIIは、抹消の味覚器にもその受容体AT1を介して作用し、味覚感受性を調節することが知られている。しかし、この分子機構については不明であった。そこで、本研究ではアンジオテンシンII合成に関わるレニン、アンジオテンシノゲンおよびアンジオテンシン変換酵素の味蕾における発現と機能について調べた。この結果、これら全ての分子が味蕾内に発現しており、さらに、絶水により味細胞におけるレニンの発現量が有意に増加していることが明らかとなった。以上のことから、アンジオテンシンIIは末梢の味蕾内で合成、分泌調節されている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Renin-angiotensin system (RAS) plays a major role in the regulation of body fluid and sodium homeostasis. Angiotensin II (AngII) is a biologically active product of the RAS. We recently revealed that AngII suppresses salt taste responses and enhances sweet taste responses via the angiotensin II receptor expressed in taste cells. However, the underlying molecular mechanisms on such taste modulations remain unknown. Here we examined the expression of RAS components producing AngII, renin, angiotensinogen and angiotensin converting enzyme, in mouse taste tissues. We found that all of RAS components were present in taste buds, and co-expressed with salt and sweet taste receptors. The expression level of Renin in taste cells increased significantly after water deprivation. These results suggest that taste organ exhibits their own RAS activity, and the specific modulation of taste sensitivity is regulated by the taste RAS, which may play important roles in sodium/calorie homeostasis.

研究分野：口腔生理

キーワード：味覚 塩味 アンジオテンシン レニン アンジオテンシノゲン アンジオテンシン変換酵素

1. 研究開始当初の背景

Naイオン(Na⁺)は、体液浸透圧の保持や神経の興奮など生命維持に不可欠な働きを担うため、体内Na⁺濃度は常に一定に保たれる必要がある。体液中のNa⁺が減少すると、アンジオテンシンII(AngII)が生成、アルドステロンの放出を促し、腎集合管においてNa⁺の再吸収を促進する。さらに減少すると、生物は“塩味”を手がかりとして外部からNa⁺を摂取することで体内Na⁺バランスを維持する。興味深いことに、この食塩飢餓状態のときには、通常嫌う高濃度の食塩水(Na⁺溶液)を好んで飲むようになる。この背景に塩味(NaCl)感受性の特異的な低下が起こることが報告されているが、この原因については明らかではない。近年の高血圧発症や、そのリスクファクターとしてのNa⁺の過剰摂取は、その根本に“塩への過度の嗜好など食調節系の乱れ”が関与するものと推定されている。食の健全化を通じて健康を維持し、生活の質(QOL)を向上させるためには、塩嗜好性を決定する塩味の受容情報伝達および調節システムの分子基盤を解明し、その理解に基づく新たな手段の確立が急務である。

塩味感受性の調節メカニズムについては、近年、申請者らが世界に先駆けてその一旦を明らかにした¹⁾。Na⁺濃度調節の鍵ホルモンであるAngIIは、副腎のみならず血管、視床下部などの様々な臓器に直接作用する。また脳室内や血中に投与すると、塩分とくにNa⁺嗜好性を高めることや、その効果は投与後1時間以内にみられることが報告されていた。そこで、このAngIIに注目して塩味感受性への影響を調べた結果、AngIIはtype1受容体(AT1)を介して末梢の味覚器にも直接作用し、塩味感受性を抑制してNa⁺摂取量を増やすことが明らかになった。この塩味応答は利尿剤アミロライドで抑制されることから、上皮型Na⁺チャネル(ENaC)を発現する塩味受容細胞で生じている可能性が示唆された。さらに興味深いことに、脳内麻薬として知られる内因性カンナビノイドの受容体CB1を発現する甘味受容細胞を介して甘味感受性を上げることで糖分の摂取量を増やすことも明らかとなった。鼓索神経応答の経時的解析では、塩味応答はAngII投与後すぐに抑制されたが、投与90-120分後では逆に応答の増大が見られた。この増強効果はAngIIにより誘導されたアルドステロン(Aldo)が味細胞に作用し、ENaCの膜発現を亢進させたため生じたものと推定している。これらのことから、体内Na⁺が欠乏している時には、AngIIが優位に働き、塩味感受性を下げて食塩嗜好性を高めることでNa⁺を摂取しやすくし、十分摂取した後はAldoが優位になり、塩味感受性を上げて忌避性を高めることで摂取量を抑えるという、2つホルモンによる実に巧妙でシークエンシャルなNa⁺摂取調節メカニズムが存在する可能性が示唆された¹⁾。しかし、これまでの研究で

は“外因性AngII”投与による効果をみているため、“内因性のAngII”がいつ、どこで、どのように分泌調節されているのかという疑問が解明されていない。また、私たちが普段、食事の前-後で経験するより短い時間での塩味嗜好性の変化については、AldoによるENaCの転写/翻訳/膜輸送を伴う数時間単位の塩味修飾機構のみで説明することは難しい。

2. 研究の目的

レニン(Ren)-AngII系は、腎から放出されたRenが肝で産生されたアンジオテンシノゲン(Agt)を切断してAngIを産生し、さらに肺と血管内皮細胞のアンジオテンシン変換酵素(Ace)などによりAngIが切断されてAngIIが産生される系であり、全身の臓器を介しているため“循環Ren-Ang系”と呼ばれる。一方、この循環Ren-Ang系とは独立して、脳、脂肪や骨などそれぞれの組織内でAngIIが発現調節される“組織局所Ren-Ang系”の存在が近年明らかになってきた。例えば、脳においては、脳室内へのAngII投与により血圧上昇や塩嗜好性亢進が惹起されることが知られているが、AngIIは通常状態では血液-脳関門を通過できないこと、またAce、AgtやAngIIが脳内組織に発現していること、さらに培養神経細胞がAngIIを産生することやグリア細胞にもAngII受容体が発現することなどから、独立した機能をもつ脳内Ren-Ang系が存在する可能性が示唆されている。これらのことから、上記のAldoによる塩味調節機構(おそらく“循環Ren-Ang系”を介したネガティブフィードバック的調節)に加えて、局所で独立して働く“味蕾内Ren-Ang系”も存在しており、口腔内の食物や唾液中のNa⁺刺激などによりAngIIが素早く分泌され、塩味感受性が精密にフィードフォワード的に調節されている可能性が示唆された。そこで、本研究課題ではAngII合成に関わるRen、AgtおよびAceに着目し、これらのマウス味覚器における発現様式と分泌機能解析を行い、「味蕾内レニン-アンジオテンシン系」の存在と機能を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

実験は、「動物の愛護及び管理に関する法律」、「九州大学動物実験規則」、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」及び「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」等の法令、並びに「九州大学遺伝子組換え実験指針」、「九州大学遺伝子組換え実験安全管理規則」を遵守し遂行した。

実験動物は、野生型C57BL/6、II型味細胞マーカーであるTrpm5-GFP(甘味/うま味/苦味受容細胞)とT1r3-GFP(甘味/うま味受容細胞、モネル化学感覚研究所、Dr. Margolske

RF より譲受)、III 型味細胞マーカーである GAD67-GFP (酸味受容細胞、群馬大学・柳川右千夫教授より譲受)を使用した(週齢 8 週~20 週、体重、25g~30g)。

AngII 関連分子(レニン: Ren、アンジオテンシノゲン: Agt およびアンジオテンシン変換酵素: Ace, AngII 受容体: AT1)の発現解析は、RT-PCR、*in situ* hybridization および蛍光蛋白発現遺伝子改変マウスを用いた 2-3 重免疫組織化学法により解析した。また、正常(非絶水)マウスをコントロールとして、23 時間絶水させたマウスも用いて、AngII 関連分子の発現変化についても調べた。

4. 研究成果

RT-PCR の結果、Ren, Agt および AceI がマウス味覚器に発現していることが明らかとなった。一方、味蕾を含まない舌上皮ではその発現は認められなかった。AceII は味覚器と舌上皮に発現していた。*in situ* hybridization をもちいた解析から、Ren, Agt および AceI の発現は味蕾の一部の味細胞に発現していることがわかった。さらに、二重組織化学染色の結果、Ren, Agt, AceI および AT1 は、味蕾内でほぼ同じ発現様式であることがわかった。さらに、味細胞マーカーとの共発現解析の結果、II 型味細胞マーカーである T1r3(甘味受容体構成因子)、または、ENaC (塩味受容体チャネル)発現細胞と共発現しており、さらにアンジオテンシン II 受容体 AT1 とも共発現していることが明らかとなった。

23 時間絶水させたマウスをもちいた解析では、Ren の発現が絶水させていないコントロールマウスに比べて、細胞質における発現が有意に増加していることが明らかとなった。

以上のことから、Ren-AngII 合成系は味蕾内の特定味細胞において機能し、味蕾内で AngII が分泌調節されており、オートクライン的に塩味細胞および甘味細胞に作用している可能性が示唆された。我々が日常的に経験する食事の中の短時間での味覚修飾(食べ始めは美味しいが、食べ終わりではあまり美味しいと感じない)が、この短時間で働く味蕾内 Ren-AngII 合成系により、甘味と塩味両方の感受性が同時に修飾されるために起こっている可能性が示唆された。また、この塩味調節を介した素早い Na⁺ 摂取機構(フィードフォワード的制御機構)により、Na⁺ の過剰摂取や過小摂取が未然に防がれ、体内 Na⁺ 量の変動が少なくなり、腎などの Na⁺ 代謝臓器の負担が軽減されている可能性が推定された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 11 件)

(1) Yoshida R, Takai S, Sanematsu K, Margolske RF, Shigemura N, Ninomiya Y.

Bitter Taste Responses of Gustducin-positive Taste Cells in Mouse Fungiform and Circumvallate Papillae. *Neuroscience*. 369: 29-39, 2018.

(2) Shigemura N, Taste Sensing Systems Influencing Metabolic Consequences. *Current Oral Health Reports*: 4(2), 79-86. 2017.

(3) Yoshida R, Shin M, Yasumatsu K, Takai S, Inoue M, Shigemura N, Takiguchi S, Nakamura S, Ninomiya Y., The Role of Cholecystokinin in Peripheral Taste Signaling in Mice., *Front Physiol*. 8: 866, 2017.

(4) Sukumaran SK, Yee KK, Iwata S, Kotha R, Quezada-Calvillo R, Nichols BL, Mohan S, Pinto BM, Shigemura N, Ninomiya Y, Margolske RF. Taste cell-expressed -glucosidase enzymes contribute to gustatory responses to disaccharides. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 113(21), 6035-40, 2016.

(5) Jyotaki M, Sanematsu K, Shigemura N, Yoshida R, Ninomiya Y. Leptin suppresses sweet taste responses of enteroendocrine STC-1 cells. *Neuroscience*. 332, 76-87, 2016.

(6) Shigemura N, Ninomiya Y. Recent Advances in Molecular Mechanisms of Taste Signaling and Modifying. *Int Rev Cell Mol Biol*. 323, 71-106, 2016.

(7) Takai S, Yasumatsu K, Inoue M, Iwata S, Yoshida R, Shigemura N, Yanagawa Y, Drucker DJ, Margolske RF, Ninomiya Y. Glucagon-like peptide-1 is specifically involved in sweet taste transmission. *FASEB J*. 29(6), 2268-80., 2015.

(8) 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*. 593(11), 2527-45, 2015.

(9) Shigemura N. Modulation of taste responsiveness by angiotensin II. *Food Sci and Tech Res*. 21(6), 757-764, 2015.

(10) Shigemura N. Angiotensin II and taste sensitivity. *Jap Dent Sci Rev*. 51(2), 51-58, 2015.

(11) Yoshida R, Noguchi K, Shigemura N, Jyotaki M, Takahashi I, Margolske RF, Ninomiya Y. Leptin Suppresses Mouse Taste Cell Responses to Sweet Compounds. *Diabetes*. 64(11), 3751-62, 2015.

[学会発表](計 31 件)

(1) 重村憲徳, 味覚(甘味・塩味)を介した栄養物質ホメオスタシス維持機構, 第 18 回日本畜産学会(招待講演), 2018.

(2) 重村憲徳, 味覚と生活習慣病, 日本食

品工学会（招待講演），2018.

(3) 重村憲徳，塩味感受性の多様性とその修飾機構，日本味と匂学会第 51 回大会（招待講演），2017.

(4) 重村憲徳，味覚と肥満，九州大学歯学部創立 50 周年記念市民フォーラム 2017（招待講演），2017.

(5) 吉田竜介、重村憲徳、二ノ宮裕三，レプチンの甘味抑制効果に関わる細胞内情報伝達機構の解析，日本味と匂学会第 51 回大会，2017.

(6) 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 T1r 非依存的甘味応答に及ぼす影響，日本味と匂学会第 51 回大会，2017.

(7) 川端由子、川端二功、西村正太郎、重村憲徳、田畑正志、高井信吾、二ノ宮裕三、重村憲徳，ニワトリ口腔組織における油脂の化学受容機構，日本味と匂学会第 51 回大会，2017.

(8) 高井信吾、二ノ宮裕三、重村憲徳，マウス味覚器に発現するインスリンレセプターは味細胞の増殖・分化に関与する，第 59 回歯科基礎医学会，2017.

(9) 吉田竜介、重村憲徳，マウス味覚応答に対するヒト苦味受容体阻害剤の効果，第 59 回歯科基礎医学会，2017.

(10) Kawabata Y, Kawabata F, Nishimura S, Shigemura N, Tabata S, Oral lipase activities and the expressions of fat taste receptors in chickens. 17th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (国際学会)，2017.

(11) Takai S, Shigemura N, Margolske RF, Ninomiya Y, The insulin signaling could promote taste cell proliferation, 17th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (国際学会)，2017.

(12) Yoshida R, Shigemura N, Ninomiya Y, Analysis of leptin signaling in T1R3-positive taste cells. 17th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory, 2017.

(13) 高井信吾，二ノ宮裕三，重村憲徳，マウス味細胞における GIP レセプターとインスリンレセプターの発現，第 94 回日本生理学会大会（国際学会），2017.

(14) 實松敬介，北川昌幸，吉田竜介，葺澤悟，重村憲徳，二ノ宮裕三，ミラクリンの味覚修飾効果における甘味受容体の完全活性化には細胞内酸性化が関与する，第 94 回日本生理学会大会（国際学会），2017.

(15) Takai S, Shigemura N, The function of insulin and insulinotropic peptides in taste tissue, 第 3 回シンポジウム 日本学術振興会・頭脳循環を加速する戦略的国際研究ネットワーク推進プログラムプログラム

（国際学会），2017.

(16) 重村憲徳，味覚の全身における機能，第二回 唾液腺病セミナー（招待講演），2017

(17) Shigemura N, Ninomiya Y, Renin-angiotensin system (RAS) in peripheral taste organs. 15th ISMNTOP (国際学会)，2016.

(18) 重村憲徳，味覚の新知見（うま味と塩味），第 58 回歯科基礎医学会学術大会（招待講演），2016.

(19) 實松敬介，吉田竜介，重村憲徳，二ノ宮裕三，ミラクリンによる甘味誘導効果の分子メカニズム，第 58 回歯科基礎医学会学術大会（招待講演），2016.

(20) 高井信吾，二ノ宮裕三，重村憲徳，マウス味細胞における glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor (GIPR) の発現，第 58 回歯科基礎医学会学術大会，2016.

(21) 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.

(22) Shigemura N, Ninomiya Y, Renin-angiotensin system (RAS) components are expressed in the taste organ, 17th International Symposium on Olfaction and Taste (国際学会)，2016.

(23) Yoshida R, Yasumatsu-Nakano 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 (国際学会)，2016.

(24) Takai S, Shigemura N, Yasumatsu-Nakano K, Inoue M, Iwata S, Yoshida R, Margolske RF, Ninomiya Y. Glucagon like peptide-1, sweet taste and metabolic modulation of peripheral taste information, 17th International Symposium on Olfaction and Taste (国際学会)，2016.

(25) Sanematsu K, Kitagawa M, Yoshida R, Nirasawa S, Shigemura N, Ninomiya Y. Intracellular acidification is involved in full activation of the sweet taste receptor by miraculin, 17th International Symposium on Olfaction and Taste (国際学会)，2016.

(26) 重村憲徳、二ノ宮裕三，味蕾におけるレニン・アンジオテンシン系の機能解析，味と匂学会第 49 回大会，2015.

(27) 重村憲徳、二ノ宮裕三，味蕾内レニン・アンジオテンシン系の機能解析，第 57 回歯科基礎医学会，2015.

(28) 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（招待講演），2015.

(29) Shigemura N, Ninomiya Y, Expression of renin-angiotensin system (RAS) components in taste organ. The 13th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (国際学会), 2015.

(30) Iwata S, Yasumatsu K, Yoshida R, Shigemura N and Ninomiya Y, Enhancement of sweet responses by stimulus repetition may be mediated by endocannabinoid system, The 13th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (国際学会), 2015.

(31) 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, 味覚受容体の機能(塩味と甘味)日本薬学会第136年会(招待講演), 2015.

〔図書〕(計 3件)

(1) 重村憲徳, おいしさの科学とビジネス展開の最前線(編著:都甲潔、柏柳誠), シーエムシー出版, 2017.

(2) 重村憲徳、二ノ宮裕三、Pharma Medica、メジカルビュー社, 2016.

(3) 重村憲徳、二ノ宮裕三, アンチエイジング医学の基礎と臨床 第3版, メジカルビュー社, 2015.

〔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

<http://www.dent.kyushu-u.ac.jp/sosiki/a06/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

重村 憲徳 (SHIGEMURA, Noriatsu)

九州大学大学院・歯学研究院・教授

研究者番号: 40336079