

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14728

研究課題名(和文) 苦味レセプターTAS2R及び肝臓解毒酵素GSTの遺伝子多型と食品の苦味感受性

研究課題名(英文) Genetic polymorphism of bitter taste receptor TAS2R and hepatic detoxification enzyme GST.

研究代表者

駒井 三千夫 (Komai, Michio)

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：80143022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：苦味受容体TAS2Rsは、口腔内だけでなく消化器系や甲状腺、気道など、様々な組織で発現し、栄養素や刺激物などのシグナル受容を介した生理機能に関与することが示唆されている。本研究では、機能的な変異が知られているTAS2R38とTAS2R46について、癌患者群と対照群との間での遺伝子型頻度を比較し、各受容体の癌リスクとの関連性を推定した。その結果、PTCのリガンドであるTAS2R38において、PTC非感受性型ホモでは対照群よりも癌患者群において遺伝子頻度が有意に高かったため、この遺伝子型は消化器癌の高リスクタイプと分類された。一方、PTC感受性型ホモでは低リスク型と分類された。

研究成果の概要(英文)：The involvement of bitter taste receptor, TAS2Rs in cancers has not been well understood. So, we conducted a pilot study by genotyping two TAS2R genes, TAS2R38 and TAS2R46, in Japanese cancer patients diagnosed with the digestive cancer. As a results, we confirmed that phenylthiocarbamide (PTC) non-tasters homozygous (AVI/AVI) for TAS2R38 were more frequent among Japanese cancer patients than those among control subjects, which indicates that the AVI/AVI genotype for TAS2R38 was therefore considered to increase cancer risk.

研究分野：食品科学、栄養生理学

キーワード：苦味受容体 TAS2R38 消化器癌患者 健常者 苦味感受性 グルタチオン-S トランスフェラーゼ(GST)

1. 研究開始当初の背景

ヒト苦味レセプター-TAS2R は、G-protein coupled receptor (GPCR)であり、25 種類がある。TAS2R には一塩基多型 (SNP) による遺伝子多型が多く見出され、苦味感受性の個人差を説明することができる。よって、食品の苦味感受性に個人差があることを遺伝子的に説明できる時代となった。

近年、TAS2R については、可食植物等に含まれる天然に存在する苦味物質のレセプターとのリガンド活性のあることが次第に明らかにされてきている (Chem. Senses, 35, 157, 2010)。これまで、TAS2R38 が PTC (phenylthiocarbamide) のレセプターであることが証明され (Nature, 440, 930, 2006)。PTC レセプターである TAS2R38 の遺伝子多型と各被験者の PTC 感受性の個人差が明らかにされ、苦味の感受性の個人差が一塩基多型 (SNP= single nucleotide polymorphism) によっていることが証明された。また 2007 年、植物のアロエに含まれる aloin が TAS2R43 をレセプターとしているらしいことが推察され (Current Biol., 17, 1403, 2007)。その後数種類の苦味物質と TAS2Rs との親和性が明らかにされつつある。

こうした中で学術的に関心を引いているのは、ブロッコリーやカリフラワーなどのアブラナ科植物の苦味感受性の個人差についてである。実際に、ブロッコリーなどのアブラナ科植物の摂取量が多い集団では肺がんや乳がんの発症率が低いという疫学調査結果が多く報告され (Cancer Epidemiol. Biomark. Prev., 18, 184, 2009; Breast Cancer Res. Treat., 121, 195, 2010、等多数) とくにアブラナ科植物に含まれる isothiocyanate 類が (苦味物質) 有効な成分であろうと推定されている。

この isothiocyanate 類の主たる解毒機構である肝臓などにおける mercapturic acid 経路の最初の段階である、ヒトのグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GSTs) 酵素では遺伝子多型が頻繁に認められ、がんの発症の個人差に関与しているものと考えられている (Pharmacol. Res., 55, 224, 2007; Eur. J. Cancer, 46, 1617, 2010; Toxicol., 277, 74, 2010; Breast Cancer Res. Treat., 121, 195, 2010、等多数)。しかし、この酵素活性の個人差と苦味の感受性の個人差との関連性は不明であり、今回のような研究が必要である。

2. 研究の目的

研究の着想は、ブロッコリー等のアブラナ科植物の摂取量が少ない被験者集団で各種の発がん率が高いというヒト疫学データにある (Nutr. Cancer, 2007 など)。アブラナ科植物に含まれる isothiocyanate 類には苦味があり、この苦味を強く感じ過ぎるために嫌いで、摂取しない人で発がん率が高いことが示唆される。すなわち、発がん率の高い人では、(1) 植物体 isothiocyanate 類の苦味成分を

受け入れられないほど苦味感受性が高いことと(苦味レセプター-TAS2R の遺伝子多型)、(2) 肝臓等でのこの植物由来物質の解毒化・無毒化の酵素の遺伝子多型の両方が関係しているのかもしれない。

この(1) と(2) を明らかにすることと、この二つの事項の関連性については、これまで着目されてきていないことから、本研究でこれを明らかにすることを目的とした。なお、前回までの報告では、この二つの事項の関連性については報告できなかったが、今回の成果では報告できることとなったので、研究は進展した。しかし、その部分の論文投稿を進めているところであり、出版までには至っていない。投稿後の 10 月過ぎ頃に公表できるものと予定している (よって、結論部分は、このファイルには掲載しない)。

3. 研究の方法

<倫理ステートメント>

本研究は、ヘルシンキ宣言 (<http://www.wma.net>) のガイドラインに従って実施され、東北大学大学院ヒトを対象とする研究に関する倫理委員会 (東北大学病院 2014-1-407、東北大学大学院農学研究科 14-A-03) によって承認された。これらのガイドラインに従って、DNA 抽出のためのすべてのサンプルを病院または大学のキャンパス内等にて集めた。全ての患者および対照者から書面によるインフォームドコンセントを得た。17 歳の患者は例外として保護者から書面でインフォームドコンセントを得た。

<被験者>

この研究では、17 歳から 94 歳までの合計 79 人の消化器系癌患者 (胆道癌 n = 17、肝細胞癌 n = 2、膵癌 n = 21、大腸癌 n = 21、胃癌 n = 18) の遺伝子型を解析した。非悪性患者は、病理検査後に除外した。対象として、21 歳から 88 歳までの 186 名の健常な被験者の遺伝子型を解析した。

<遺伝子型分析>

・TAS2Rs

ゲノム DNA の抽出は口腔内粘膜組織を採取し、DNeasyBlood & Tissue Kit を用いて常法により行った。TAS2R38 または TAS2R46 コード配列を含むゲノム領域は、コード領域を挟んだ一組のプライマーを用いて PCR により増幅した。次に、増幅した断片を、ABI PRIZM 310 Genetic Analyzer またはシーケンシングサービス (Takara Bio. Inc. Shiga. Japan) により分析し遺伝子配列を決定した。

<統計法>

患者および対照における TAS2R のアレルおよび遺伝子型頻度の統計解析は、Statcel3 ソフトウェア (OMS Publishing Inc. Saitama. Japan) を用いたカイ二乗検定を用いて行い、有意水準は $P < 0.05$ とした。オッズ比 (OR) は、遺伝子型を有する被験者の数が患者および対照者において他の遺伝子型の被験者数と比較し 2×2 分割表より計算した。OR 値、

95%信頼区間 (CI) および P 値は、2-Way Contingency Table Analysis (<http://www.grade-jpn.com/2x2.html>) を使用して 2×2 分割表より推定した。患者と対象者との年齢および性別の差異の調整は、国立がんセンター (<http://www.ncc.go.jp/en/cis/index.html>) によって発行された最新の日本人のがん統計を用いて行った。

4. 研究成果

<結果>

TAS2R38 の主要なハプロタイプでは 3 箇所の連鎖したアミノ酸置換をもたらす SNP (rs713598, rs1726866 および rs10246939) が含まれるので PAV 型、AVI 型 (A49P, V262A および I296V) と表記される 2 型のアレルがある。この二型性で生ずるホモとヘテロの各遺伝子型では、人工苦味物質 PTC に著しい感度の違いが見られるので、テイスター (PAV / PAV および AVI / PAV 遺伝子型) およびノンテイスター (AVI / AVI 遺伝子型) と呼ばれる。対象者集団における TAS2R38 の AVI および PAV のアレル頻度は、本研究 (表 1a) では 40% および 60% であり、HapMap データベース (International HapMap Project; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/>) および東北メディカル・メガバンク機構のデータベース (iJGVD, <http://ijgvd.megabank.tohoku.ac.jp/>) の値と一致した。

TAS2R38 の 3 種類の遺伝子型 AVI / AVI、AVI / PAV および PAV / PAV の頻度は、それぞれ 16%、48% および 36% であり、これらの頻度は Hardy-Weinberg 平衡にあった。アジア人と比較すると白人では AVI アレル頻度が高いので各遺伝子型頻度は 32-34%、44-49% および 19-22% であり、人種によりアレル頻度や遺伝子型頻度が異なる。

TAS2R38 のアレルおよび遺伝子型頻度はどちらも、癌患者群と対照群との間で有意に異なることがわかった。癌患者群における TAS2R38 の AVI および PAV アレル頻度は、それぞれ 53% および 48% であった (P = 0.010)。癌患者群における TAS2R38 の遺伝子型頻度分布は、AVI / AVI、AVI / PAV および PAV / PAV のそれぞれ 28%、49% および 23% であり、対照群と有意に異なっていた (P = 0.035)。癌患者群における AVI / AVI ホモ型頻度は、対照群よりも約 1.75 倍高値であった。逆に癌患者群における PAV / PAV 型は、対照群よりも約 0.64 倍低く、癌患者における AVI / AVI 型の頻度は高く PAV / PAV 型の頻度は低かった。

次に、TAS2R46 のアレルおよび遺伝子型の頻度を比較した。この苦味受容体では翻訳アミノ酸配列上で第 250 番目のトリプトファン残基の位置に終止コドンをもたらすヌル変異 (W250 *) がヒト集団で知られている。対照者群におけるヌルアレル頻度 (23%) は、iJGVD および HapMap データベースにおける日

本人集団について報告されたものとよく一致した。

TAS2R46 の癌リスクに関する研究はこれまでなされていないので本研究が初めての研究である。対照者群の約 6% は、TAS2R46 遺伝子型についてヌルアレルのホモ型 (* / *) でありアレル頻度も遺伝子型頻度も群間で有意に異ならなかった。TAS2R46 は苦味受容細胞でも気道上皮細胞でも TAS2R38 と共発現するが、TAS2R46 は癌患者群ではどの遺伝子型頻度にも差が見られなかった。

次に、特定の遺伝子型について他の遺伝子型に比べたときのオッズ比 (OR) を求めて各遺伝子型の癌リスクを推定した。TAS2R38 の AVI / AVI ホモ遺伝子型を有する被験者はその他の遺伝子型 (AVI / PAV および PAV / PAV) 遺伝子型の被験者と比較して、癌発症リスクが有意に高いことがわかった (OR = 2.04; 95%CI = 1.095, 3.815; P = 0.024)。

ドイツおよびチェコ人においても AVI / AVI 型では大腸癌のリスクが増大することが報告されており、本研究によって日本人においてこの傾向をはじめて確認することができた。しかしながら、ハワイ人や韓国人の被験者を用いた別の研究ではこの傾向はみられていない。

本研究では TAS2R38 遺伝子の PAV / PAV 型は他の遺伝子型 (AVI および AVI / PAV) と比較して癌発症リスクが有意に低いと推定された (OR = 0.55; 95%CI = 0.299, 0.996; P = 0.048)。これに対し AVI / PAV ヘテロ遺伝子型の発症リスクは PAV / PAV 型よりも高く AVI / AVI 型より低い中間型のリスクを示すことがわかった。官能検査による味覚テストでもヘテロ遺伝子型は PTC に対して中間型の感受性型として分類されていることとよく対応している。

同様に TAS2R46 の遺伝子型についても各遺伝子型で発症リスクを解析した。ヌルアレルのホモ型 (* / *)、ヘテロ型 (* / W) および標準アレルのホモ型 (W / W) の各 OR 値は 0.86 (95%CI = 0.280, 2.61; P = 0.801)、1.06 (95%CI = 0.609, 1.843; P = 0.841) および 0.98 (95%CI = 0.572, 1.677; P = 0.940) であり、すべての遺伝子型についてほぼ 1 となり、リスクに差は認められなかった。

今回調べた 5 種類の各癌タイプでもヌルホモ型の OR 値では差は認められなかった。したがって TAS2R46 のヌル変異は消化器系癌のリスクとは関連しないことが示唆された。

<考察>

本研究は、TAS2R38 の AVI / AVI 遺伝子型がリスク遺伝子型であることを日本人において初めて証明し、白人の大腸癌患者で Carrai らが報告した先行研究の結果を裏付けた。さらに本研究では、PAV / PAV 遺伝子型が逆にリスクが有意に低いことも示唆された。PAV / PAV 遺伝子型の癌に対する耐性効果はこれまで報告されていない。各遺伝子

型のリスクを他の遺伝子型と個別に比較解析しなかったためと思われる。本研究の方法で計算したところ Choi らの研究でも (OR = 0.78; 95%CI = 0.617, 0.985; P = 0.037) また Carrai らの研究でも (OR = 0.66; 95%CI = 0.518, 0.848; P = 0.001) PAV / PAV 遺伝子型のリスクは 1 よりも有意に低いことがわかった。しかし Schembre らの研究では再計算した PAV / PAV 遺伝子型のオッズ比は 1 と近似し、リスクに差は認められなかった (OR = 1.11; 95%CI = 0.910, 1.364; P = 0.309)。

遺伝子型頻度の合計は 1 であるため癌患者群の PAV / PAV 遺伝子型頻度の減少は遺伝子型頻度の増大に部分的に起因する可能性があるが、癌患者群の遺伝子型分布は Hardy-Weinberg の平衡にはならないので、癌患者の PAV / PAV の遺伝子型頻度は AVI / AVI の遺伝子型頻度からは予測できないはずである。本研究の結果をまとめると、TAS2R38 の 2 つのホモ遺伝子型である AVI / AVI と PAV / PAV は日本人の消化器系癌の発癌リスクをそれぞれ増大、減少させる効果をもつ、拮抗する 2 つの遺伝子型であることが示唆された。

以上が成果の大半であるが、これは *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 誌 (63 巻, page 148-154, 2017) に掲載した。しかし、支援された研究の後半部分(グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GSTs) の遺伝子多型)は、投稿論文を作成中であり、英文誌に公表後に報告する予定である。この部分には論文公表する前には公開できない遺伝子情報があるため、模倣 (originality を取られること) を防ぐためにこの部分は非公開とさせていただいた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件): 査読あり。

1) Yamaki, M., Saito, H., Isono, K., Goto, T., Shirakawa, H., Shoji, N., Satoh-Kuriwada, S., Sasano, T., Okada, R., Kudoh, K., Motoi, F., Unno, M., Komai, M.: Genotype analysis of bitter-tastereceptor genes *TAS2R38* and *TAS2R46* in Japanese patients with gastrointestinal cancers. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **63**, 148-154, 2017.

[学会発表](計 2 件)

1) Yamaki, M., Saito, H., Isono, K., Goto, T., Shirakawa, H., Shoji, N., Satoh-Kuriwada, S., Sasano, T., Okada, R., Kudoh, K., Motoi, F., Unno, M., Komai, M.: Contribution of bitter receptor TAS2Rs and glutathione-S-transferase on preference and bitterness of the cruciferous vegetables. International Symposium of Olfaction and Taste 2016, 2016 年 6 月 5 日 ~ 9 日, Pacifico

Yokohama (横浜市)

2) Saito, H., Yamaki, M., Numakura, Y., Iribe, M., Ishikura, A., Isono, K., Goto, T., Shirakawa, H., Komai, M.: Evaluation of individual bitterness sensitivities to phenyl-thiocarbamide and 6-n-propylthiouracil associated with sex difference and self-reported bitterness sensitivity to grapefruit. International Symposium of Olfaction and Taste 2016, 2016 年 6 月 5 日 ~ 9 日, Pacifico Yokohama (横浜市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等: 掲載なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

駒井 三千夫 (KOMAI, MICHIO)

(東北大学・大学院農学研究科・教授)

研究者番号: 80143022

(2) 研究分担者

・白川 仁 (SHIRAKAWA, HITOSHI)

(東北大学・大学院農学研究科・准教授)

研究者番号: 4020628

・後藤 知子 (GOTO, TOMOKO)

(東北大学・大学院農学研究科・助教)

研究者番号: 00342783

(3) 連携研究者

・磯野邦夫 (ISONO, KUNIO)

(東北大学・大学院農学研究科・技術補佐員)

研究者番号: 70124550

(4) 研究協力者

・八巻美智子 (YAMAKI, MICHIKO)

(東北生活文化大学・助教、社会人博士課程

在籍者 = 平成 29 年 3 月修了)