

令和元年5月31日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H03031

研究課題名(和文) 味と香りの複合刺激が食べ物の美味しさに及ぼす効果の分子機構

研究課題名(英文) Molecular mechanism underlying the effects of multisensory flavor perception on food palatability

研究代表者

前橋 健二 (MAEHASHI, Kenji)

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：20328545

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：味と香りの複合刺激並びに単一物質の複雑味の分子機構を明らかにするために、香気物質が味覚受容体の味応答に及ぼす影響、並びに単一味物質による複数味覚受容体への作用を調べた。官能評価によってカルダモン香気成分は閾値以下の濃度で茶カテキンEGCgの苦味を有意に抑制した。さらに、HEK293細胞を用いたセルベースアッセイにおいて、カルダモンの香気成分存在下ではEGCgに対する苦味受容体T2R14発現細胞の応答が抑制されることが示された。また、セルベースアッセイによって、清酒の甘味成分である -エチルグルコシドが甘味受容体T1R2-T1R3だけでなく各種苦味受容体も活性化することが見いだされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

緑茶に多く含まれるエピガロカテキンガレート(EGCg)は多くの生理機能が知られており特定保健用食品の有効成分として広く利用されているが、その苦渋味によって嗜好性を損なうことが課題となっている。本研究でEGCgの苦味抑制においてカルダモン香気成分の有効性が認められたことは、香りによって味を改良できた例の一つとして食品産業に与えるインパクトは大きい。さらに香りによる味の改良が味覚受容体レベルでの作用である可能性を示す結果が得られたことは、味と香りの複合感覚によるおいしさ向上の分子機構解明の大きな手掛かりとして意義深い。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of odorants on the bitter taste of catechins and sweet-bitter taste of ethyl -D-glucoside (-EG). We observed that the threshold levels of cardamom flavor fraction (CFF) significantly suppressed the bitterness of green tea by human sensory evaluation. Additionally, we confirmed the bitterness-suppression effect of CFF against epigallocatechin gallate (EGCg) via a cell-based assay using human bitter receptor (hT2R14)-expressing cells. Furthermore, more significant suppression of EGCg bitterness was observed when the hT2R14-expressing cells were prerinsed with CFF. It has been established that -EG contributes to the unique flavor of sake, which tastes sweet with a bitter aftertaste. We found that both bitter and sweet receptor-expressing cells responded to -EG. Our results indicate that -EG activates not only sweet but also bitter receptors to elicit both sweet and bitter tastes, respectively.

研究分野：調味食品学

キーワード：苦味受容体 甘味受容体 うま味受容体 苦味抑制 茶カテキン -エチルグルコシド

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

## 1. 研究開始当初の背景

味わうときに口内から遡って感じる香りは味と共においしさを決定する主要因である。味と香りはいずれも化学物質による受容体への刺激によって感じる化学感覚で、それぞれの受容体から別々な情報として伝わり、相互に影響し合って食物の「味」として知覚されると考えられている。

甘味、苦味、酸味、塩味及び苦味の5つの基本味は、それぞれの味質に対応する受容体が活性化されることで感じられる。味蕾の味細胞膜上には各種味覚受容体が存在し、ショ糖やサッカリンなどの甘味物質は甘味受容体T1R2/T1R3を、苦味物質は苦味受容体T2Rを、グルタミン酸などのうま味物質はうま味受容体T1R1/T1R3を活性化することにより味細胞にそれぞれの味覚刺激を引き起こし、その情報は脳に伝わって味として認識される。ヒトは25種類の苦味受容体を持ち、構造が多岐にわたる多数の苦味物質に対してそれぞれ選択的に応答する。例えば、T2R14はカフェインに、T2R39は茶カテキンに、T2R40はイソフムロンにそれぞれ応答する。研究代表者らは発酵食品のコク味への関与が推定される苦味ペプチドがT2R1を活性化することを初めて見出した。現在では25種類の苦味受容体のほとんどについて応答する苦味物質が特定されている。味の相互作用に関しては、グルタミン酸と5'-イノシン酸のうま味の相乗作用がうま味受容体でも確認されている。また、最近、苦味受容体応答を抑制する苦味阻害剤がいくつか報告された。甘味抑制に関しては、香気物質ダマスコンがスクラロースに対する甘味受容体応答を濃度依存的に抑制することが報告されている。近年、砂糖や食塩の摂取量を減らせるよう、甘味や塩味、うま味などを増強する呈味増強剤が開発されているが、イチゴの香りによるショ糖水溶液の甘味増強や醤油の香りによる食塩水の塩味増強効果など、香りが呈味に影響を及ぼすことはよく知られ、研究も多く、様々な加工食品において応用されている。最近、醤油香気構成成分である4種類の化合物の一定割合の組成物が、うま味や塩味を増強することが報告されるなど、分子レベルでの研究も進んでいる。しかし、香りの付与による味の増強は、香りと味質がマッチングしないと効果が弱く、適用できる食品が限定されるという問題がある。これらの香気成分は、香りが感じられない濃度で呈味改善効果を生じるものであるため、従来知られている味と香りの脳での統合により感じる味とは異なる作用機構で味が感じられると推測される。

現在のところ味覚受容体のブロッカーまたはエンハンサーについての報告は非常に少ないが、ある味物質に対する味覚受容体応答が他の味物質や閾値濃度以下の香気物質の存在によって増幅または抑制される現象が見られれば、味覚受容体の味物質結合部位あるいはその近傍にエフェクター分子が作用して親和性を高めたりマスキングするメカニズムが推定される。

## 2. 研究の目的

食べ物の美味しさは五感を総動員して楽しむものであるが、中でも味覚と嗅覚は化学物質によって引き起こされる化学感覚であるため、美味しさの分子機構を解く手がかりとして重要である。5つの基本味物質や各種香り物質のそれぞれに対応する味覚受容体や嗅覚受容体の存在が明らかにされているが、実際に我々が食べ物から感じる味は複雑であり、異なる味質の物質同士あるいは味物質と香り物質といった複合物質の刺激により食べ物の美味しさが形成されるものと考えられる。特に、香気物質が味覚へ直接作用することが明らかになれば、味と香りの複合感覚によるおいしさ向上の科学的根拠となり、食産業に与えるインパクトは大きい。

食品には様々な味物質が含まれ、各物質がそれぞれの味質に対応する味覚受容体を刺激することで多様な味応答が生じ、それらの複合味信号が食品の味の特徴を形成していると考えられている。しかしながら、食品にはしばしば個性的で基本5味で表現できない味質があることから、一つの物質が5味のいずれかの受容体を刺激するとは限らないことが予想される。すなわち、食品の味の複雑さに、含まれる味物質の存在割合や味の強弱だけでなく、各々の物質の味

質（ニュアンス）が関わっていると考えられる。

本研究では、香気物質が味覚受容体の味応答に及ぼす影響を中心に、単一味物質による複数味覚受容体への作用も調べることにより、食べ物の複雑な美味しさを感じるしくみを分子レベルで明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 市販スパイス 18 種類について常圧水蒸気蒸留を行い、蒸留液を香気画分とした。市販の高カテキン緑茶（ペットボトル、カテキン 400 mg/500 ml）に緑茶の香りに影響しないレベル（0.01-1.2%）で香気画分を添加し、官能評価によりカテキン類の苦味軽減効果を有するスパイスをスクリーニングした。官能評価には、二点比較法、1 対 2 比較法、カテゴリー尺度法等を用いた。客観的評価法として、一つには、電子味覚システム（アルファ・モス・J）を用いて、香気画分を加えた緑茶の味質プロファイルの変化を調べた。また、よりヒトの感覚に近い評価法として、茶カテキンの中で最も含量の多いエピガロカテキンガレート（EGCg）に反応する苦味受容体 T2R14 安定発現細胞を用いる方法を検討した。香気画分を処置した際の苦味受容体応答をセルベースアッセイにより測定し、客観的評価法としての可能性を評価するとともに、軽減効果の作用機構についても検討した。

(2) 各種ヒト苦味受容体 hT2R、ヒト甘味受容体 hT1R2/hT1R3 各遺伝子は、ヒトゲノムから PCR にて取得され発現ベクターに組み込まれたものを用いた。甘味受容体遺伝子は G タンパク質を安定発現している HEK293 細胞にて一過性発現させた。カルシウム指示薬を負荷した後、リガンド溶液を添加し、マイクロプレートリーダーにて苦味受容体、甘味受容体、またはうま味受容体応答による細胞内カルシウム濃度変化を計測した。

### 4. 研究成果

#### (1) スパイス香気成分が緑茶カテキンの苦味刺激に及ぼす抑制作用

スパイス香気成分が緑茶カテキン類の苦渋味に及ぼす影響を官能評価にて調べた結果、カルダモンに有意に緑茶の苦み軽減効果が認められたほか、レモンバームやユーカリにも軽減傾向が認められた。電子味覚システムを用いて香気画分を加えた緑茶の味質の変化について客観的な評価を行った。カテキン含量が異なる 3 種類の市販ペットボトル緑茶（A：36 mg/100 ml, B：80 mg/100ml, C：154 mg/100ml）をコントロールとし、緑茶 B にカルダモン、レモンバーム、ユーカリ、ローズマリー、レモンバーベナの各香気画分を加えた。5 種類の試料について三連で味質を評価し、苦味・うま味について主成分分析を行った。その結果、カテキン含量の異なるコントロール緑茶 3 種が明確に分離されたことより、第二主成分による分離は苦味強度によるものと考えられた。香気画分を添加した緑茶試料は全て、第二主成分では緑茶 B とほぼ同じレベルにあり苦味の違いを判別できなかった（Fig.1）。

次に、茶カテキン EGCg に反応する苦味受容体 T2R14 安定発現細胞を用いて、カルダモン香気画分存在下での EGCg に対する苦味受容体応答を調べた。EGCg に対して苦味応答がみられることを確認した上で、EGCg 溶液とカルダモン香気画分を混合したものを細胞に添加し、除去する（同時添加法）　まずカルダモン香気画分を細胞に添加し、除去した後 EGCg 溶液を細胞に添加する（プレリンス法）の 2 種類の方法によって苦味応答に及ぼすカルダモン香気画分の影響を調べた。その結果、どちらの方法においても、カルダモン香気画分を添加することにより苦味受容体の EGCg 応答が抑制されたこと（Fig.2）から、香気成分が苦味を抑制すると示唆され、客観的評価に利用できる可能性が示された。尚、カルダモン香気画分の苦味応答抑制効果は、プレリンス法においての方がより顕著にみられた。このことより、カルダモン香気画分による

苦味軽減効果は、香気成分の苦味受容体への直接的な作用による可能性が示唆された。

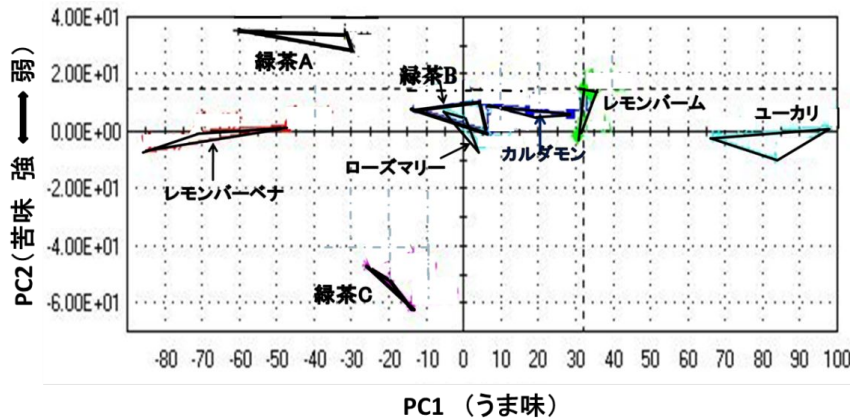


Fig. 1 緑茶類の電子味覚システムによる味質（うま味及び苦味）測定値に基く主成分得点の散布図（緑茶 A、B、C:カテキン含量の異なる市販ペットボトル緑茶； カルダモン等：緑茶 B にカルダモン等のスパイスの香気画分を添加した茶試料）

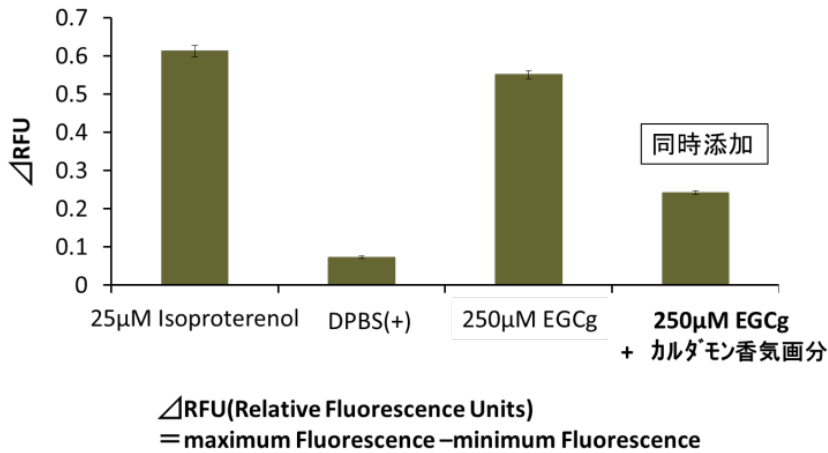
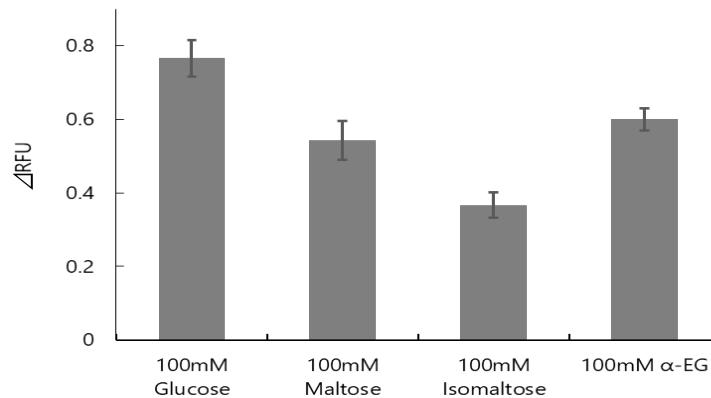


Fig. 2 カルダモン香気画分の苦味受容体 T2R14 の EGCg 応答に及ぼす影響

(2) 清酒に含まれる甘苦味物質エチル-β-D-グルコシドの味覚受容体刺激

エチル-β-D-グルコシド(β-EG)は即効性の甘味と遅効性の苦味を持つ物質であることが知られており、β-EG は清酒においてエタノールに次ぐ主要な甘味成分であることから、清酒特有の甘味質に寄与していると考えられている。そこでβ-EG に対する甘味受容体および苦味受容体の応答についてセルベースアッセイにて調べた。

α-EG はグルコースやマルトース等の糖類と同様に甘味受容体を刺激することが



確認された(Fig.3)。さらに、α-EG が複数の苦味受容体にも作用することを見出

Fig.3 ヒト甘味受容体発現細胞のβ-EG及び各種糖類に対する応答（Mock-transfected細胞の応答を差し引いてある）

した(Fig.4)。従って、 $\alpha$ -EG に特徴的な味質は甘味受容体と苦味受容体の両方を刺激することによって生じる複合味覚であると推定された。

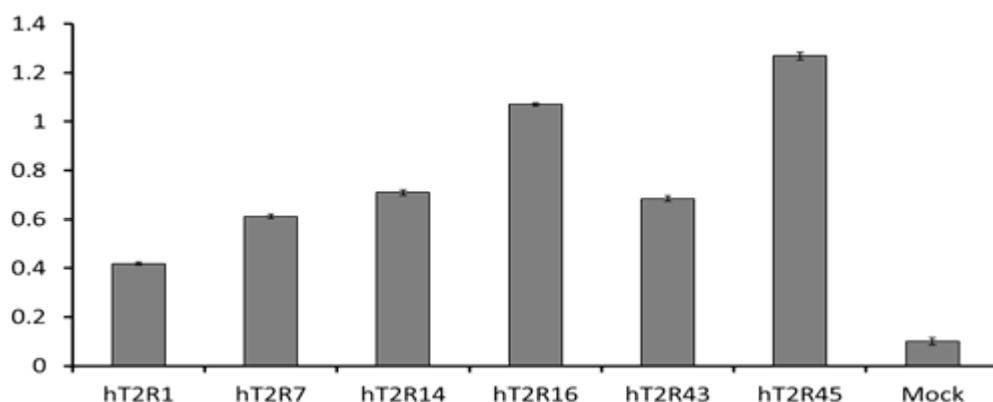


Fig. 4 ヒト苦味受容体発現細胞の  $\alpha$ -EG(100mM)への応答

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1) Ren Yabiku, Akihiko Nakao, Kana Nakajima, Yutaka Kashiwagi, Liquan Huang and Kenji Maehashi, Sweet and bitter responses of human taste receptors to ethyl  $\alpha$ -D-glucoside, a distinctive sweet substance in sake. 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016) PACIFICO Yokohama (June 6, 2016)

2) 中島香奈、尾関峻輔、中尾暁彦、屋比久廉、前橋健二、久保田紀久枝：スパイス香気成分が緑茶カテキンの苦味刺激に及ぼす抑制作用、第 60 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 TEAC 網走 2016 (2016 年 10 月 29 日～31 日) 東京農大オホーツクキャンパス(北海道網走市)

〔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

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：久保田紀久枝

ローマ字氏名：KUBOTA, Kikue

所属研究機関名：東京農業大学

部局名：総合研究所

職名：教授

研究者番号(8桁)：90008730

(2)研究協力者  
研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

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。