

令和元年6月25日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00840

研究課題名(和文) 味覚受容体による味シグナル入力と脳での味知覚出力のギャップの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the gap between taste signal by taste receptors and taste perception in the brain

研究代表者

日下部 裕子 (KUSAKABE, Yuko)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・ユニット長

研究者番号：90353937

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：味覚受容体を導入した培養細胞を利用して、甘味物質が甘味受容体と結合することによってもたらされるシグナルの強さを測定し、ヒト試験を行って測定した甘味刺激による唾液分泌量と官能評価による味の強さと好みの評価結果を比較検討した。4種類の高甘味度甘味料を用いた比較を行ったところ、甘味受容体の応答、甘味の強さおよび唾液分泌量が強く相関することが明らかになった。一方、甘味の嗜好性は、甘味受容体の応答、甘味の強さ、唾液分泌のどれとも相関が低かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

味覚受容体を導入した培養細胞による呈味性の評価とヒト官能評価の比較はこれまであまり行われてこなかった。本研究は、甘味料と甘味受容体の関係を反映した甘味料の呈味性評価方法を提示するものであり、味の受容の仕組みを活かした適切な味の評価につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：The responses of human sweet taste receptor hT1r2/hT1r3 expressing HEK293 cells were analyzed, and were compared with the salivation and taste intensity and preferences by sensory evaluation technique. Four non-nutritive sweeteners were analyzed, and we observed the highly correlation among the response by taste receptor, sweetness intensity, and salivary secretions. On the other hand, the preferences for the sweeteners were not related to them.

研究分野：食生活学

キーワード：味覚受容体 甘味料

1. 研究開始当初の背景

(1) 味覚受容を担う味覚受容体は2010年までに基本味(甘・苦・酸・塩・うま味)に対する受容体が一通り同定されるなど、かなりの部分が明らかにされてきている。その一方で、食品の味の評価は、官能評価が中心となっている。特に、甘味料についてはショ糖を基準とした「砂糖の何倍の甘さ」というような一元的な評価が行われている。物質と受容体の関係は、本来、親和性と活性化能の二次元、すなわち用量反応曲線で評価すべきであるが、そのような知見は少ない。

(2) 官能評価は、脳で知覚した情報を言語として表したものである。一方、味物質と味覚受容体の相互作用は、食品を口にした時に最初に起こる事象を反映している。よって、味覚情報伝達により何等かの修飾が起こった場合には、受容体による応答と官能評価による評価は、異なる可能性がある。

2. 研究の目的

(1) 味覚受容体を発現させた細胞に味物質を作用させたときの応答と、唾液分泌、官能評価の結果を比較し、口腔内における抹消感覚の受容シグナルが延髄を介して脳に至ったときにどのように変化するかを観察することを目的とする。また、同様の解析を、味覚受容体に対する応答とマウスが味溶液を舐めるという行動との比較、これまでに発表されている神経応答結果と比較することにより行い、動物実験とヒト試験の結果の相違を明らかにする。

(2) 味覚受容体を発現させた細胞に対する味応答を様々な味物質を添加することにより測定し、実際の閾値や感じる強さとの比較を行う。また、味の増強や抑制が引き起こされる濃度の用量反応曲線における位置づけを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 味覚受容体を発現させた細胞の味物質に対する応答測定: HEK293細胞にマウスあるいはヒト甘味受容体 T1r2/T1r3、およびC末端を改変したGタンパク質 G₁₆-gust を恒常的に発現させた培養細胞を、甘味受容体と味物質の相互作用を調べるために用いた。また、ヒト辛味受容体 TRPV1、TRPA1 を恒常的に発現させた細胞も作製し、味の増強との関係を調べるために利用した。受容体の応答はカルシウムイメージング法を用いて行い、応答強度は Flexstation3 (Molecular devices 社) を利用して行った。

(2) 味刺激に対する唾液分泌測定および官能評価は被験者29人に対して行った。ヒト対象研究については、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構における疫学研究倫理規程に則り、疫学研究倫理審査委員会での審議による承認を経てから行った。唾液分泌は、味刺激後、50秒間に分泌される唾液をカップに吐き出し、その重量を測定することで行った。甘味強度の評価は the general Labeled Magnitude Scale (gLMS) により行った。嗜好性の評価は視覚的評価スケール (VAS 法) を利用した。

(3) 甘味受容体応答、甘味強度、嗜好性、唾液分泌変化量について、用量反応曲線を作成した。受容体応答については、ソフトウェア SigmaPlot を利用して、Hill の式に適用させ、EC50 を算出した。相関係数は Excel を使用して求めた。

4. 研究成果

(1) 甘味受容体細胞における甘味料の応答特性

6種類の甘味料(スクラロース、アスパルテーム、アセスルファムK、レバウディオシドA、キシリトール、ショ糖)について、甘味受容体の応答、甘味強度、嗜好度、唾液分泌量を測定して用量反応曲線を作成し、比較した。まず、hT1r2/hT1r3を導入した培養細胞の甘味料に対する応答をカルシウムイメージング法を用いて測定した。用量反応曲線を作成したところ、応答強度はシグモイド曲線に当てはめられ、スクラロース、アスパルテームについて、既報とほぼ同様のEC50が得られた。これまでに、複数の甘味料を同一の用量反応曲線で表した知見が少ないため、本研究では、すべての応答を1つのグラフで表すことを試みた。その結果、甘味料ごとに甘味受容体に対する親和性と活性が異なることが明らかとなった。スクラロース、レバウディオシドは甘味受容体に対する親和性も活性も高いが、アセスルファムカリウムは、これらの甘味料より親

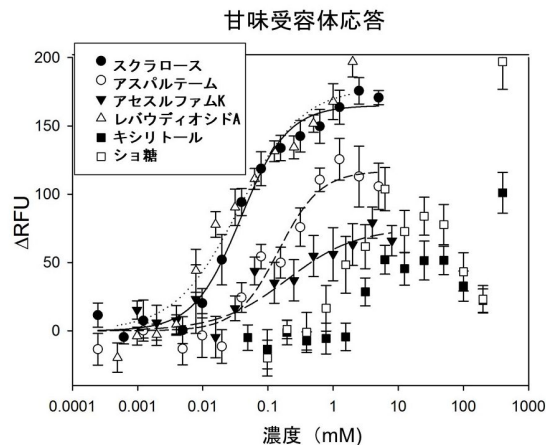


図1. 甘味料に対する甘味受容体の活性

和性も活性も低いことが明らかとなった。一方、キシリトールとシヨ糖については 10 mM 以上の刺激に対する応答性が不安定になり、シグモイド曲線に適用することができなかった。

(2) 甘味料に対する唾液分泌測定

甘味刺激後 50 秒間で分泌された唾液すべてをカップの中に吐き出すことにより唾液分泌の変化を測定した。その結果、ヒト甘味受容体の応答と同様に、甘味料の濃度が高くなるのに従って、唾液分泌量が増加すること、またその増加率も、甘味受容体に対する応答と呼応し、甘味料によって異なることが示された。

(3) 甘味料に対する官能評価

各甘味料について官能評価を行い gLMS 法により甘味強度を VAS 法により嗜好度を評価した。各甘味料の濃度は、予備実験を行い、わずかに甘味を感じる濃度から苦味を呈さないあるいは飽和に至るまでの濃度を設定した。得られた結果については、ヒト甘味受容体の応答や唾液分泌と同様に、それぞれの評価法で得られたプロットの相対的な位置を数値化して縦軸とした 1 つのグラフで示した。その結果、ヒト甘味受容体の応答および唾液分泌と同様に、甘味料によって、甘味応答が得られる濃度と甘味強度が異なることが示された。一方、嗜好度については、個人差が大きいものの、高甘味度甘味料では濃度が上がることで嗜好度が下がり、シヨ糖とキシリトールでは濃度が上がると嗜好度も上がることが観察された。

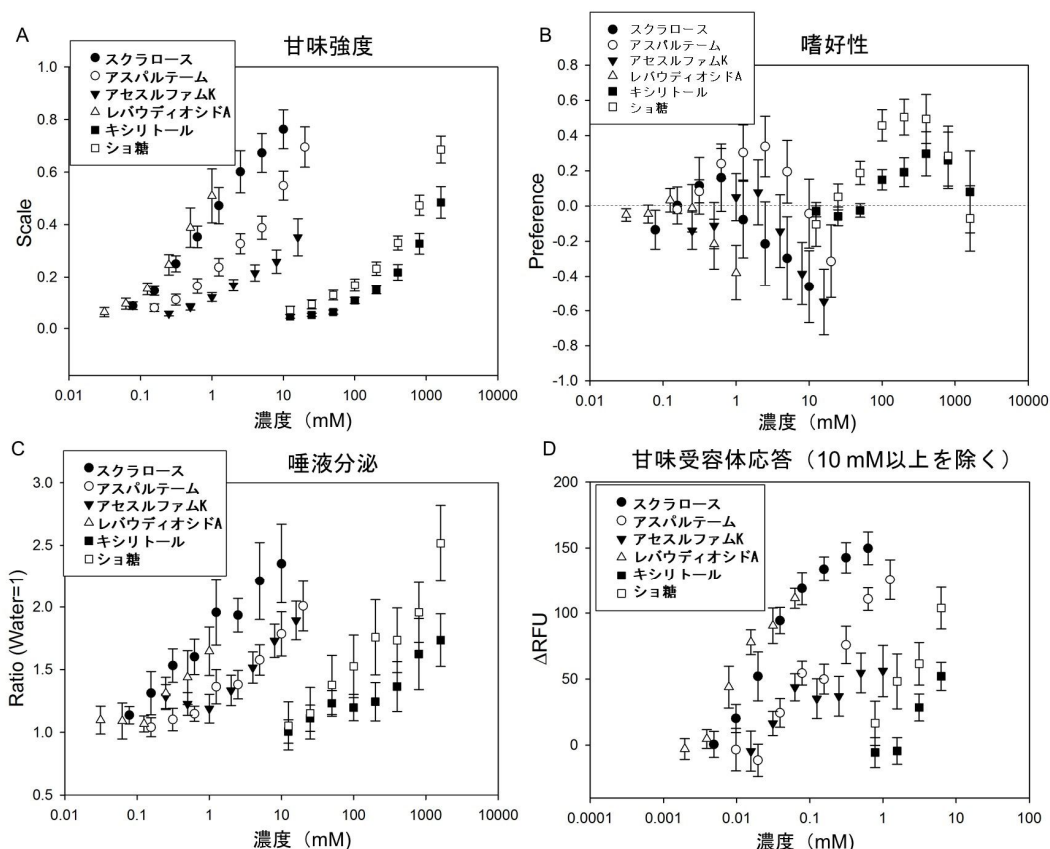


図.2 甘味料の甘味受容体に対する応答と、唾液分泌および官能評価（甘味の強度および嗜好性）の関係

(4) 培養細胞とヒト試験の乖離

個別の甘味料について、甘味強度、嗜好性、唾液分泌についての相関を調べた。その結果、甘味強度と唾液分泌はレバウディオシド以外で強く相関した。一方、甘味強度と嗜好性は、スクラロース、アスパルテーム、レバウディオシドで有意に逆相関し、唾液分泌と嗜好性は、シヨ糖以外の甘味料で有意に逆相関した。

甘味受容体と官能評価では、甘味受容体の感度が約 20 倍高いことが明らかになった。この乖離の原因は、培養細胞とヒト口腔内の環境の差である可能性が最も高いが、官能評価で感じられない濃度は、隠し味など言葉にできない好ましい味として感知されている可能性が残されている。

(5) 辛味受容体

ヒト辛味受容体を用いて受容体に対する感受性と官能評価における感受性を比較した。その結果、受容体で応答が観察され始める濃度と、官能評価における閾値の間に、約 30 倍の乖離があ

ることが観察された。この乖離の原因としては、ヒトの甘味受容と同様、培養細胞とヒト口腔内の環境の差である可能性が最も高いが、辛味物質をごく少量入れることで、他の味が増強される現象も存在していることから、他の味を引き立てるためのごくわずかな信号として機能している可能性も残されている。

(6) マウスにおける甘味受容体と動物行動学的手法による評価の比較から、マウスとヒトの甘味感受性は異なることが知られている。そこで、マウスでも感受性のある3種類の甘味料（アセスルファム K、サッカリン、スクラロース）を用いて、マウス甘味受容体を導入した培養細胞に対する応答と、これらの溶液を舐める回数を数えることによる甘味度の行動学的評価を比較した。その結果、甘味の強度について、培養細胞ではスクラロースの方が最大値が大きくなったのに対し、行動学的評価では、舐める回数の最大値は3種類の甘味料でほぼ同じだった。一方、甘味料に対する親和性（グラフの横軸）については、スクラロースの方が親和性が高くより低濃度で甘味を呈することが、培養細胞でも行動学でも観察された。また、ヒト試験と同様、培養細胞と行動学的評価の間における親和性について、10～20倍の感度の差が観察された。

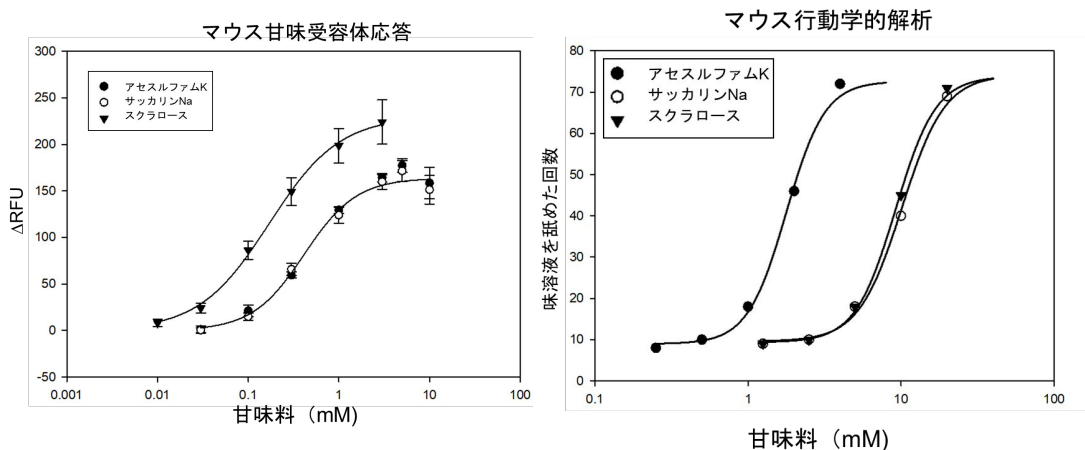


図3. マウスにおける甘味料の甘味受容体に対する応答と、溶液を舐める回数との関係
溶液を舐める回数は、味の強度と嗜好性の両方を反映する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 6 件)

小川 雪乃、日下部 裕子、Effects of food hardness, elasticity, and amount taken at a time on salivation. The 17th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory perception. 2018

藤川誠二、宮澤利夫、佐久間克也、村西修一、日下部裕子、Characterization of cooling agents by TRPM8 and TRPA1 activit. 日本味と匂学会第 52 回大会、2018

小川 雪乃、日下部 裕子、食物の硬度・弾性・一回あたりの摂取量が唾液分泌量に及ぼす影響、日本味と匂学会第 52 回大会、2018

日下部 裕子、小川 雪乃、河合 崇行、基本味刺激に対する唾液分泌量および唾液中成分の変化、日本味と匂学会第 52 回大会、2018

日下部 裕子、進藤 由美子、河合 崇行、山本 万里、和田 有史、甘味受容体応答、甘味強度および唾液分泌の関係、日本味と匂学会第 51 回大会、2017

Yuko Kusakabe, Yumiko Ito, Takayuki Kawai, Mari Yamamoto, Yuji Wada, Response to sweeteners as measured by sweet taste receptor reaction, sensory evaluation of taste intensity, and salivary secretion. The 16th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, 2017

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

ローマ字氏名：NINOMIYA, Yuzo

研究協力者氏名：河合 崇行

ローマ字氏名：KAWAI, Takayuki

研究協力者氏名：和田 有史

ローマ字氏名：WADA, Yuji

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。