

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17016

研究課題名(和文)カプサイシンによる味覚修飾；軸索反射放出ペプチドの甘味受容経路に与える影響

研究課題名(英文) Adrenomedullin enhances taste nerve responses to sugars via T1Rs-independent receptor systems

研究代表者

岩田 周介 (Shusuke, Iwata)

九州大学・歯学研究院・助教

研究者番号：60780062

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マウス鼓索神経応答の解析から、カプサイシン (Cap)が糖類、NaClの応答を増強し、人工甘味料や他の味物質に対しては影響を生じないことがわかった。さらにマウス味蕾に、Cap受容体活性化により軸索反射で放出されるアドレノメデュリン (ADM)受容体が発現していること、ADM投与により糖類特異的な甘味応答の増強が生じること、ADM受容体阻害薬でこの増強が消失することが明らかになった。さらに、この増強作用は、糖特異的な甘味受容機構であるSGLT1阻害薬フロリジンにより消失することから、Cap刺激により放出されたADMにより、SGLT1発現量が変化し、糖類特異的な味応答の増強が生じたと予想された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、Cap刺激により生じる軸索反射で放出されるADMにより、SGLT1を介した糖に対する甘味応答の増強を生じることが明らかになった。CapによるTRPV1活性化は、マウス小腸でのGLP-1の分泌を増加させ、肥満に伴い生じるインスリン抵抗性を改善し、上昇した血糖値を正常値に戻すことなどが報告されている。甘味受容細胞は、腸と同様にT1R系と糖輸送体の2つの受容体や、KATPチャネル、GLP-1などの下流分子を共有していることから、Capにより誘起される味覚修飾機構の分子基盤解明は、他臓器で生じるTRPV1を介したエネルギー・糖質代謝調節機序の理解に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Chorda tympani (CT) nerve responses recordings in mice showed capsaicin (Cap) enhances responses to sugars and NaCl, but not to artificial sweeteners (AS) and others. I found Adrenomedullin (ADM), peptide released via axon reflex evoked by Cap stimulation, receptors were expressed in mice taste buds. ADM enhances CT nerve responses to sugars but not to AS and others. Enhancing effects of ADM on responses to sugars were abolished by pretreatment of ADM receptors inhibitor AM22-52. Recent study has demonstrated that sodium-dependent glucose cotransporters 1 (SGLT1) was expressed in T1R3-positive cells and mediate the T1R-independent sweet sensing pathway of sugars but not of AS. Interestingly, ADM enhances SGLT1 expression in rat intestine. SGLT1 inhibitor Phloridzin abolished enhancing effect of ADM, suggesting that ADM released by Cap inducing axon reflex enhances sweet taste responses via SGLT1, and our data may imply potential involvement of T1Rs-independent receptor systems.

研究分野：味覚

キーワード：アドレノメデュリン カプサイシン SGLT1

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

唐辛子の辛味成分であるカプサイシン (Cap) は三叉神経末端に発現する痛み受容陽イオン非選択的イオンチャネルの TRPV1 を刺激することが明らかになっている。一方で、味覚への影響に関しては、ヒトでは、全く影響はない(Cowart, B.J. 1987)、苦味を感じる(Green BG, Schullery MT. 2003)、甘味うま味を低下させるなど味覚修飾が生じた(Simons CT et al. 2002)と相反する結果も含め多種多様の報告がなされている。また、げっ歯類においても味神経応答解析で、塩味を増強(Lyall V et al. 2004)するということもや、低下(Osada K et al. 1997)させることなどが報告されている。さらに TRPV1 が甘味受容細胞、苦味受容細胞に発現する(Moon YW et al. 2010)とするものや、味蕾細胞に TRPV1 が発現しない(Ishida Y et al. 2002; Kido MA et al. 2003)、また TRPV1 遺伝子欠損マウスで Cap により甘味嗜好性が低下する(Costa RM et al. 2005)という報告があるなど統一した見解は得られていない。多様な結果が存在する背景には、これらの報告の多くで、TRPV1 の感受性の低下(脱感作)をもたらす可能性が高い 30 μ M 以上(-500 μ M)の Cap を用いていることや、実験を末梢味細胞での受容(RT-PCR、免疫組織化学的手法、*in situ* hybridization、味細胞応答など)から、味神経の情報伝達(味覚神経応答)、中枢において認知される(行動試験など)までの各過程のある段階のみを、異なる条件下で行っていることに起因することが推定された。

まず、予備実験として、まず脱感作の生じる可能性の低い 0.1~10 μ M CAP の味覚への影響を、野生型(C57BL6J;B6)マウス鼓索神経応答を指標に検索した。その結果、この濃度範囲の Cap 単独の舌刺激では、鼓索神経に有意な活動変化は生じない可能性が示された。次に、各種味溶液(甘・塩・酸・苦・うま味)と、それぞれの 3 μ M Cap 混合液に対する応答を解析した。その結果、0.5M グルコースや 0.5M スクロースなどの応答が増強し、人工甘味料や他の味物質の応答に変化は生じないことが示唆された。甘味受容機構に関しては、G 蛋白質共役型受容体 T1R2/T1R3 が甘味受容体として機能していることが報告されている。近年になり、腸や膵臓で機能する糖輸送体(SGLT1、GLUTs)、KATP チャネル、消化管ペプチドが甘味受容細胞にも発現することが報告され(Yee KK, et al. 2011)、申請者も味覚神経応答や行動実験を用いて、GLP-1 が甘味受容細胞から味神経への情報伝達に関与すること(Takai S et al. 2015)や、腸で二糖類の分解に働く -グルコシダーゼが甘味受容細胞にも発現し、単糖への分解とその受容に関与すること(Sukumaran SK et al. 2016)、さらに、SGLT1 が主に単糖類の甘味受容に関与することを明らかにした(安松ら、未発表)。これらの結果から、SGLT1 は T1Rs 非依存性の甘味受容経路として機能していると推定される。Cap による応答の増強作用は人工甘味料では認められなかったことから、T1Rs 非依存性甘味受容経路で生じたことが予想された。興味深いことに、Cap 刺激により生じる軸索反射で放出されるペプチドの ADM が、腸内皮細胞において SGLT1 発現量を増加させる(Fernández de Arcaya I et al. 2005)ことなどが報告されている。しかしながら、現段階で ADM の味覚への影響については調べられていない。

2. 研究の目的

本研究では、この ADM に注目し、マウス鼓索神経応答解析や、RT-PCR 等を駆使することで Cap による甘味修飾機構の解明を目指した。

3. 研究の方法

・ RT-PCR を用いたマウス味蕾における ADM 受容体発現の検索

B6 マウスの茸状乳頭、および有郭乳頭、味蕾を含まない舌上皮、小腸における ADM 受容体構成分子の発現を調べた。

・ 鼓索神経応答解析による検討

ペントバルビタールナトリウム (50-60mg/kg) 腹腔内投与にて麻酔処理を行なった B6、及び T1R3-遺伝子欠損(T1R3-KO)マウスを用い、鼓索神経応答解析を行う。Cap の甘味増強作用への SGLT1 や ADM の関与を検討した。各種味溶液には甘味(0.5M グルコース、0.5M スクロース、0.001M SC45647)・塩味(0.1M 塩化ナトリウム、0.1M 塩化カリウム)・酸味(0.01M 塩酸)・苦味(0.02M 塩酸キニーネ)・うま味(0.1M グルタミン酸カリウム)を用い検証した。

1) SGLT1 が Cap による甘味応答の増強作用に関与しているかを調べるため、SGLT1 阻害薬フロリジンが Cap の甘味応答増強作用に与える影響を T1R3-KO マウスを用いて検討した。

2) ADM が各味応答に与える影響を調べた。まず B6 マウスを用い ADM 静脈内投与(大腿静脈; 大静脈)による味応答への影響を調べた。次に 受容体阻害薬 ADM22-52 前投与による効果を検討した。Cap と同様に、甘味応答で増強効果が認められた場合は、T1R3-KO マウスで同様の検討を行い、さらに SGLT1 阻害薬フロリジン前処理により、この増強効果に SGLT1 が関与するかを調べた。

4. 研究成果

RT-PCR を用いた実験から、マウスの茸状乳頭、有郭乳頭で ADM 受容体が発現していることが明らかになった。

B6 マウスを用いた鼓索神経応答解析から、Cap による舌処理後、糖類および NaCl に対する味応答の増強が生じることが明らかになった。そこで次に既知の甘味受容機構の構成分子である T1R3 を遺伝子欠損させた T1R3-KO マウスで同様の実験を行なったところ、糖類に対する残余応答に対し、Cap による応答の増強効果が生じることが明らかになった。上記したように、T1Rs 非依存性の甘味受容経路として SGLT1 が機能していると考えられる。T1R3-KO マウスを用い、SGLT1 阻害薬であるフロリジンの効果を調べた結果、Cap による甘味応答の増強作用が消失することが

わかった。

ADM 静脈内投与の結果、B6 マウスでは糖特異的な味応答の増強効果が生じることがわかった。さらに、この ADM 投与による効果は、ADM 受容体阻害薬 ADM22-52 前処理によって消失した。T1R3-KO マウスを用いた実験では、糖に対する残余応答が ADM 投与により増強し、さらにこの効果は ADM22-52 前処理により消失することが明らかになった。また、ADM による増強作用は、フロリジンにより消失することがわかった。

これらの結果から、Cap による糖特異的な甘味応答の増強は、T1Rs 非依存性の甘味受容経路である SGLT1 を介して生じている可能性が高いことが明らかになった。さらに、この SGLT1 を介した甘味応答の増強作用には Cap 刺激により放出される ADM が関与している可能性が示唆された(図参照)。

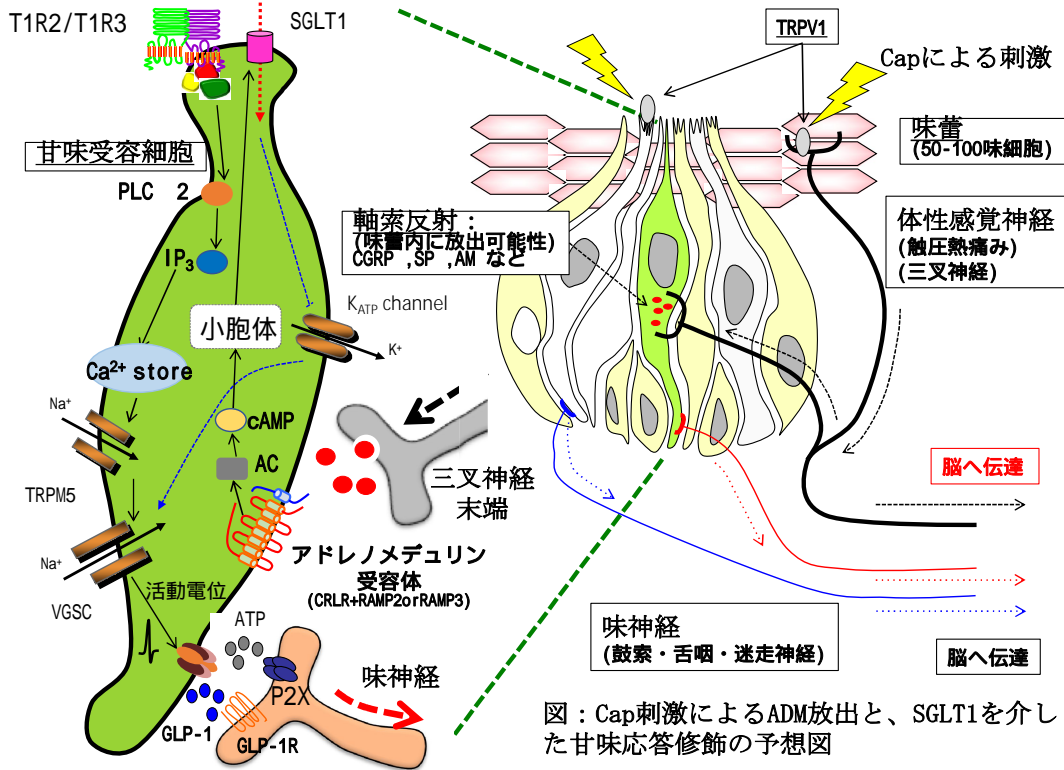


図: Cap刺激によるADM放出と、SGLT1を介した甘味応答修飾の予想図

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yasumatsu Keiko, Iwata Shusuke, Inoue Mayuko, Ninomiya Yuzo	4. 巻 226
2. 論文標題 Fatty acid taste quality information via GPR120 in the anterior tongue of mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Physiologica	6. 最初と最後の頁 e13215 ~ e13215
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/apha.13215	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Shusuke Iwata, Mayuko Inoue, Ryusuke Yoshida, Yuzo Ninomiya
2. 発表標題 The effect of Adrenomedullin on chorda tympani nerve responses to sugars via T1rs-independent pathway in mice
3. 学会等名 The 18th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory perception (ISMNTOP/YRUF/AISCRIB2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩田周介、井上真由子、吉田竜介、二ノ宮裕三
2. 発表標題 Adrenomedullin enhances sweet taste responses to sugars via T1Rs-independent sweet taste pathway in mice
3. 学会等名 日本味と匂学会第53回大会高知大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩田周介、井上真由子、吉田竜介、二ノ宮裕三
2. 発表標題 アドレノメデュリンによるT1Rs非依存性経路を介するマウス鼓索神経糖応答への影響
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会東京大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shusuke Iwata, Mayuko Inoue, Keiko Yasumatsu, Ryusuke Yoshida, Yuzo Nimomiya
2. 発表標題 Adrenomedullin enhances chorda tympani nerve responses to sugars in mice.
3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress in conjunction with The 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shusuke Iwata, Keiko Yasumatsu, Mayuko Inoue, Ryusuke Yoshida, Yuzo Nimomiya
2. 発表標題 Adrenomedullin enhances chorda tympani nerve responses to sugars but not to artificial sweetener in mice.
3. 学会等名 The 17th ISMNTOP(YRUF/AISCRIB) 2018 in conjunction with Special Events celebrating the 50th Anniversary of Monell Chemical Senses Center (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩田周介、安松啓子、井上真由子、吉田竜介、二ノ宮裕三
2. 発表標題 アドレノメデュリンのマウス鼓索神経応答への影響.
3. 学会等名 日本味と匂学会第52回大会埼玉大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩田周介、安松啓子、吉田竜介、二ノ宮裕三
2. 発表標題 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.
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会福岡大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----