

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03819

研究課題名（和文）味細胞特殊イオンチャネルシナプスによる味覚神経伝達機構の全容解明

研究課題名（英文）Elucidation of channel synapse-mediated neurotransmission of tastes

研究代表者

樽野 陽幸（Taruno, Akiyuki）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：20706824

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：味蕾で甘味・苦味・うま味の受容細胞はII型味細胞に分類される。味物質が味覚受容体に結合すると神経伝達物質としてATPが放出されて味情報を求心性味神経へ伝達される。先行研究で研究代表者はCALHM1とCALHM3によるヘテロ多量体CALHM1/3チャネルが神経伝達物質放出経路であることを発見し、この特殊な化学シナプス様式をチャネルシナプスと命名している。本研究では、チャネルシナプス構造、CALHM1/3チャネル活性の構造基盤、塩味受容におけるチャネルシナプスの役割、さらに口腔外におけるチャネルシナプス発現分布の解明を通じてチャネルシナプスの理解を深めることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では塩の美味しさを司る塩味受容の細胞分子メカニズムを解明した。塩の過剰摂取は高血圧のリスク因子であり、全世界で減塩が推奨されている。今後、科学的な知見に基づいた減塩食品の開発研究が加速すると期待できる。

研究成果の概要（英文）：In taste buds, taste receptor cells for sweetness, bitterness, and umami are classified as type II taste cells. When taste substances bind to taste receptors, adenosine triphosphate (ATP) is released as a neurotransmitter, transmitting taste information to gustatory nerves. In previous research, the lead researcher discovered that the heteromeric CALHM1/3 channel formed by CALHM1 and CALHM3 is the pathway for neurotransmitter release, and named this unique chemical synaptic machinery as "channel synapse". In this study, we were able to deepen our understanding of channel synapses through elucidating the structure of channel synapses, the structural basis of CALHM1/3 channel activity, the role of channel synapses in salt taste perception, and the distribution of channel synapses outside the oral cavity.

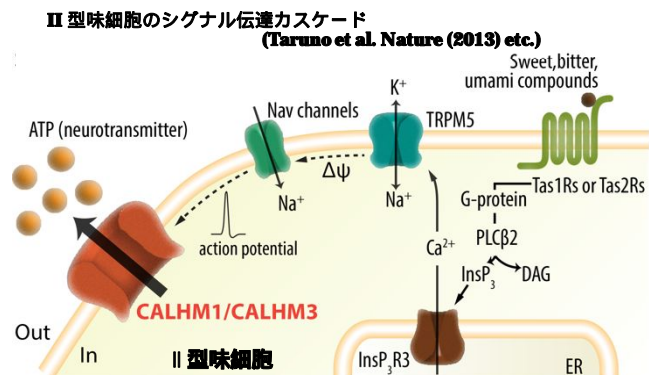
研究分野：生理学

キーワード：味覚 シナプス 神経伝達 ATP イオンチャネル CALHM ミトコンドリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

味藪で5基本味(甘味・苦味・うま味・塩味・酸味)はそれぞれ異なる味細胞により受容されるが、中でも甘味・苦味・うま味の受容細胞はII型味細胞に分類される。味物質がII型味細胞口腔側膜上の味覚受容体に結合すると、活動電位依存性ATP放出が惹起され、このATPが求心性味神経への神経伝達物質として味情報を脳へと伝える。II型細胞の神経伝達物質放出機構は非小胞性である点がユニークで、研究代表者は先行研究においてcalcium homeostasis modulator 1 (CALHM1)とCALHM3によるヘテロメリックCALHM1/3複合体が神経伝達物質放出チャネルであることを発見した。さらにこのCALHM1/3を基盤とする特殊な化学シナプス様式を「チャネルシナプス」と命名し、研究を推進してきた(Nature 495:223, 2013; J Physiol 595:6121, 2017; Neuron 98:547, 2018 etc.)



さらにこのCALHM1/3を基盤とする特殊な化学シナプス様式を「チャネルシナプス」と命名し、研究を推進してきた(Nature 495:223, 2013; J Physiol 595:6121, 2017; Neuron 98:547, 2018 etc.)

2. 研究の目的

本研究では、チャネルシナプスの概念を確立すべく、以下に挙げる4課題を目的として研究を計画した。

- 課題 チャンネルシナプス構造の解明
- 課題 CALHM1/3チャンネル活性の構造基盤の解明
- 課題 味覚受容における役割の全貌解明
- 課題 口腔外における発現分布の解明

3. 研究の方法

本研究におけるマウスを用いた実験は、動物実験計画書を京都府立医科大学および研究分担者の所属する研究機関の動物実験委員会に提出し、動物実験委員会の承認を受けた上で研究を実施した。また、実際の動物実験においては、「京都府立医科大学動物実験指針」および各研究機関の動物実験指針に従い、可能な限り使用個体を少なくし、ストレスや苦痛を軽減する条件下で実験を行った。

組換えDNA実験は、「京都府立医科大学遺伝子組換えDNA実験安全管理規程」および研究分担者の所属する研究機関の遺伝子組換えDNA実験安全管理規程に基づき、承認を得て実施した。

課題

モルモット抗マウスCALHM1抗体を作製し、これを用いてマウス味藪のチャネルシナプス構造を免疫組織学的方法により解析した。加えて、シナプス構造を可視化する目的でZeiss Airyscanによる超改造顕微鏡撮影を適宜実施した。

課題

チャネルシナプスにおける神経伝達物質であるATPの透過性の分子基盤を明らかにする目的で、複数のCALHMチャンネル分子の立体構造について、クライオ電子顕微鏡単粒子解析を行った。さらに、site-directed mutagenesis、acyl-biotin exchange assay、click chemistry、western blottingなどの分子生物学、生化学的解析にパッチクランプ法、ルシフェラーゼアッセイなどの機能解析を組み合わせた実験により、CALHM1/3チャンネル局在および機能へのパルミトイル化および糖鎖修飾の影響を解析した。

課題

味細胞種特異的GCaMP3発現マウスモデルの作出、パッチクランプ法、Ca²⁺イメージング、免疫組織学、末梢神経記録、行動解析を組み合わせ、味藪でナトリウムを呈味物質とする塩味を受容する細胞分子メカニズムを解明することを目的に実験を行った。

課題

チャネルシナプスの全身分布を明らかにする目的で、チャネルシナプスに特異的に局在する

分子をコードする遺伝子に着目し、この遺伝子プロモーターの活性をマウスの全身臓器で網羅的に解析した。

4. 研究成果

(*責任著者; #筆頭著者)

課題

CALHM1/3・ミトコンドリア・神経の固有の空間配置によるチャンネルシナプス構造を解明

Kashio M, Wei-Qi G, Ohsaki Y, Kido MA, Taruno A*. CALHM1/CALHM3 channel is intrinsically sorted to the basolateral membrane of epithelial cells including taste cells. *Sci. Rep.* 9, 2681 (2019)

課題 -1

killifish CALHM1, human CALHM2, *C. elegans* CLHM-1 の Cryo-EM 立体構造を解明し、CALHM チャンネルの神経伝達物質 ATP の透過性の分子基盤を解明

Demura K, Kusakizako T, Shihoya W, Hiraizumi M, Nomura K, Shimada H, Yamashita K, Nishizawa T, Taruno A*, Nureki O*. Cryo-EM structures of calcium homeostasis modulator channels in diverse oligomeric assemblies. *Sci. Adv.* 6, eaba8105 (2020)

課題②-2

翻訳後化学修飾による CALHM1/3 チャンネルの機能調節機構を解明

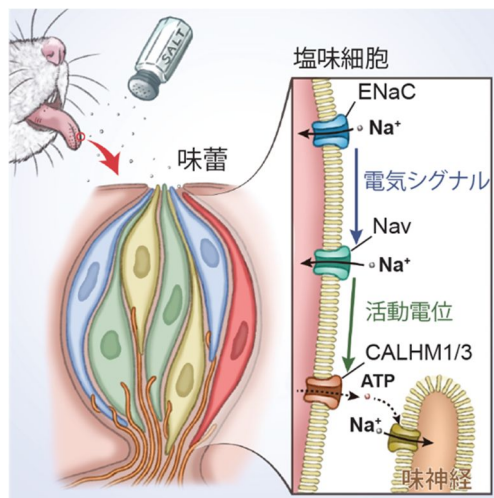
Okui M, Murakami T, Sun H, Ikeshita C, Kanamura N, Taruno A*. Posttranslational regulation of CALHM1/3 channel: N-linked glycosylation and S-palmitoylation. *FASEB J.* 35, e21527 (2021)

課題

チャンネルシナプスが塩味の神経伝達を担うことを解明

Nomura K#, Nakanishi M, Ishidate F, Iwata K, Taruno A#*. All-electrical Ca^{2+} -independent signal transduction mediates attractive sodium taste in taste buds. *Neuron* 106, 816-29 (2020)

マウス味蕾の塩味受容細胞を同定し、さらに、この細胞で塩味の情報が変換され、脳へと伝達される仕組みを分子レベルで解明した。 Na^+ が epithelial Na^+ channel (ENaC) を介して塩味細胞に流入すると活動電位が生じ、その結果 CALHM1/3 チャンネルシナプスを通して ATP が細胞外へと放出され、塩味情報を脳に伝達する神経を活性化させる。塩味センサー-ENaC の同定から 30 年来の謎だった塩味トランスダクションを、塩味受容細胞の可視化マウスと考案した細胞外の Na^+ 濃度を変えずに ENaC だけを活性化させる実験技術を組み合わせて解明した。塩の過剰摂取は高血圧のリスク因子であり、全世界で減塩が推奨されている。今後、科学的な知見に基づいた減塩食品の開発研究が加速すると期待できる。チャンネルシナプスの味覚における新たな役割を明らかにした研究でもある。



課題

独自のチャンネルシナプス発現臓器の蛍光可視化マウスの全身44臓器を対象としたスクリーニングを元に、複数のチャンネルシナプス発現臓器を発見。そのうちの一つの臓器に着目し、味覚以外の新たなチャンネルシナプスの生理機能を発見した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Okui Motoki, Murakami Tatsuro, Sun Hongxin, Ikeshita Chiaki, Kanamura Narisato, Taruno Akiyuki	4. 巻 35
2. 論文標題 Posttranslational regulation of CALHM1/3 channel: N linked glycosylation and S palmitoylation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202002632R	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Taruno Akiyuki, Nomura Kengo, Kusakizako Tsukasa, Ma Zhongming, Nureki Osamu, Foskett J. Kevin	4. 巻 473
2. 論文標題 Taste transduction and channel synapses in taste buds	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pflugers Archiv - European Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 3~13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-020-02464-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Demura Kanae, Kusakizako Tsukasa, Shihoya Wataru, Hiraizumi Masahiro, Nomura Kengo, Shimada Hiroto, Yamashita Keitaro, Nishizawa Tomohiro, Taruno Akiyuki, Nureki Osamu	4. 巻 6
2. 論文標題 Cryo-EM structures of calcium homeostasis modulator channels in diverse oligomeric assemblies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaba8105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aba8105	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 -
1. 著者名 樽野陽幸	4. 巻 39(1)
2. 論文標題 味覚を担う第2の化学シナプス「チャネルシナプス」	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CLINICAL NEUROSCIENCE	6. 最初と最後の頁 112-113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 樽野陽幸	4. 巻 39(2)
2. 論文標題 味覚受容の分子メカニズム	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CLINICAL NEUROSCIENCE	6. 最初と最後の頁 159-162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nomura K, Nakanishi M, Ishidate F, Iwata K, Taruno A	4. 巻 -
2. 論文標題 All-electrical Ca ²⁺ -independent transduction mediates attractive sodium taste in taste buds	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuron.2020.03.006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 樽野陽幸	4. 巻 8(2)
2. 論文標題 味蕾における味覚受容メカニズム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 嚥下医学	6. 最初と最後の頁 178-181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 樽野陽幸	4. 巻 128(9)
2. 論文標題 味覚系特殊イオンチャネルシナプス	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 京都府立医科大学雑誌	6. 最初と最後の頁 637-643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taruno Akiyuki, Gordon Michael D.	4. 巻 85
2. 論文標題 Molecular and Cellular Mechanisms of Salt Taste	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Annual Review of Physiology	6. 最初と最後の頁 25 ~ 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1146/annurev-physiol-031522-075853	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 該当する

1. 著者名 Matsuo Masahiro, Seo Kazuyuki, Taruno Akiyuki, Mizoro Yasutaka, Yamaguchi Yoshiaki, Doi Masao, Nakao Rhyuta, Kori Hiroshi, Abe Takaya, Ohmori Harunori, Tominaga Keiko, Okamura Hitoshi	4. 巻 39
2. 論文標題 A light-induced small G-protein gem limits the circadian clock phase-shift magnitude by inhibiting voltage-dependent calcium channels	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 110844 ~ 110844
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.110844	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32件 (うち招待講演 23件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 The channel synapse mediates epithelial chemosensory neurotransmission
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Soma S, Nomura K, Suematsu N, Murakami T, Taruno A
2. 発表標題 Central gustatory processing elucidated by optogenetic identification of the gustatory pathway.
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 The channel synapse mediates epithelial chemosensory neurotransmission
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 国際連携シンポジウムCPS-KPS-JPS合同シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 チャンネルシナプス:シナプス小胞に依存しない化学神経伝達機構
3. 学会等名 生理研シナプス研究会「シナプスの理解深化からの神経回路動態の再考」（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Murakami T, Nomura K, Hayatsu N, Okazaki Y, Taruno A
2. 発表標題 Extra-oral distribution and function of the channel synapse
3. 学会等名 日本味と匂学会第55回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 塩味の細胞と分子のメカニズム
3. 学会等名 生理研上皮膜研究会「上皮膜輸送の多様性・調和機構を基盤とする異分野融合研究の創出」（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 光に照らし出された塩味受容の細胞分子メカニズム
3. 学会等名 第92回日本動物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Cellular and molecular mechanisms underlying sodium taste in taste buds
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 味覚神経伝達を担う “チャンネルシナプス” の構造と機能
3. 学会等名 自然科学研究機構 ネットワーク型研究加速事業 生理研プロジェクト 「機能タンパク質の構造と機能のダイナミクスと、それに基づく細胞・生体システム作動機構の研究拠点の形成」シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Physiological roles of CALHM1/3 channels ~ Channel Synapse ~
3. 学会等名 The 73rd Korean Physiological Society Annual Meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Taste Coding and “Channel Synapse” in the Gustatory System
3. 学会等名 The 35th Joint Annual Conference of Biomedical Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Salt-responsive Cells; A Unique Cell Type?
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Association for Chemoreception Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno Akiyuki
2. 発表標題 All-electrical signal transduction and "channel synapses" mediate sodium taste
3. 学会等名 第5回食欲・食嗜好研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taruno Akiyuki
2. 発表標題 All-electrical signal transduction and "channel synapses" mediate sodium taste
3. 学会等名 第43回日本神経科学学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taruno Akiyuki
2. 発表標題 All-electrical signal transduction and "channel synapses" mediate sodium taste
3. 学会等名 The 18th international symposium on olfaction and taste (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taruno Akiyuki
2. 発表標題 塩味受容の細胞と分子のメカニズム - チャネルシナプスの構造と生理 -
3. 学会等名 生理学研究所 研究会 「イオンチャネルと生体膜のダイナミズム：構造生物学の先にあるもの」 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taruno Akiyuki
2. 発表標題 Transduction and coding of sodium taste in taste buds
3. 学会等名 日本味と匂学会第54回大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taruno Akiyuki
2. 発表標題 味覚神経伝達を担う “チャネルシナプス” の構造と機能
3. 学会等名 自然科学研究機構 ネットワーク型研究加速事業 生理研プロジェクト 「機能タンパク質の構造と機能のダイナミクスと、それに基づく細胞・生体システム作動機構の研究拠点の形成」シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taruno Akiyuki
2. 発表標題 Cellular and molecular mechanisms underlying sodium taste in taste buds
3. 学会等名 The 98th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nakanishi Miho, Nomura Kengo, Taruno Akiyuki
2. 発表標題 Attenuation of electrical excitability of sour taste cells by extracellular acidification
3. 学会等名 日本味と匂学会第54回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nomura Kengo, Taruno Akiyuki
2. 発表標題 ナトリウムの好ましい味を担う細胞内情報伝達メカニズムの解明
3. 学会等名 日本味と匂学会第54回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 味覚系特殊イオンチャネルシナプスの構造と分子機構
3. 学会等名 第3回感覚器研究イニシアチブ・シンポジウム「感覚と脳 - 基礎から臨床へ - 」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Ion channel synapses of the taste bud.
3. 学会等名 NIPS International Workshop "Sensing food/nutrient/environment toward integrative metabolic regulation" (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taruno A, Nomura K
2. 発表標題 Cells and transduction of sodium taste at the periphery.
3. 学会等名 The 17th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Transduction of sodium taste in the taste buds
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakanishi M, Nomura K, Taruno A
2. 発表標題 The cells and neurotransmission underlying sodium taste in the taste buds
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Channel synapse: a chemical synapse where transmitter release is mediated by ion channel pores
3. 学会等名 Ion Channel Modulation Symposium 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Gustatory neurotransmission mediated via the channel synapse
3. 学会等名 the 44th Annual Meeting of Association for Chemoreception Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Cellular and molecular mechanisms underlying airway protective reflexes
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 チャンネルシナプス 生体内外の化学感覚を担う上皮性シナプス
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 塩のおいしさを司るナトリウム味受容の細胞分子機構
3. 学会等名 第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taruno A
2. 発表標題 Channel synapse: a chemical synapse where transmitter release is mediated by ion channel pores
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 樽野陽幸	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 260
3. 書名 第1章「味覚の受容」摂食と健康の科学（高田 明和編）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究室ホームページ https://www.tarunolab.com Researchmap-樽野陽幸 https://researchmap.jp/akit taruno</p>
--

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
研究分担者	岩槻 健 (Iwatsuki Ken) (50332375)	東京農業大学・応用生物科学部・教授 (32658)	
研究分担者	城戸 瑞穂 (Kido Mizuho) (60253457)	佐賀大学・医学部・教授 (17201)	
研究分担者	山本 正道 (Yamamoto Masamichi) (70423150)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・特任部長 (84404)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関