

機関番号：17102

研究種目：若手研究 (A)

研究期間：2008～2010

課題番号：20689034

研究課題名 (和文) 生活習慣病の新規ターゲット味覚関連分子：ポリバレントケモセンサーとしての機能解析

研究課題名 (英文) Taste receptor: a new therapeutic target for obesity and diabetes

研究代表者

重村 憲徳 (SHIGEMURA NORIATSU)

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号：40336079

研究成果の概要 (和文)：うま味は、アミノ酸の検出・摂取に関わる重要な感覚である。ヒトうま味感受性に個人差があることが報告されていたが、この原因は不明であった。本研究により、G蛋白質共役受容体 T1R1/T1R3 のヘテロ二量体がヒトうま味受容体として働いていること、さらに遺伝子多型性によるアミノ酸変異体 T1R1-372Thr は、-372Ala より高感受度受容体として、T1R3 -757Cys は、-757Arg より低感受度受容体として働くことが明らかとなった。

研究成果の概要 (英文)：Umami taste is elicited by L-glutamate, and is thought to be one of five basic taste qualities that plays a key role in intake of amino acids. A heterodimer of a G protein coupled receptor, T1R1 and T1R3, is proposed to function as its receptor. However, little is known about single nucleotide polymorphisms (SNP) in the genes and its potential links with individual differences in umami sensitivity. Here we investigated the association between recognition thresholds for umami substances and genetic variations in human T1R1 and T1R3, and the functions of T1R1/T1R3 variants using a heterologous expression system. Our study demonstrated that the T1R1-372Thr creates a more sensitive umami receptor than -372Ala, while T1R3-757Cys creates a less sensitive one than -757Arg for umami substances, and showed a strong correlation between the recognition thresholds and in vitro dose-response relationships. These results in human studies support the propositions that a T1R1/T1R3 heterodimer acts as an umami receptor, and that genetic variation in this heterodimer directly affects umami taste sensitivity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	9,000,000	2,700,000	11,700,000
2009年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2010年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
年度			
総計	17,600,000	5,280,000	22,880,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：味覚、うま味、遺伝子多型性、受容体、臓器、ヒト、肥満

## 1. 研究開始当初の背景

近年、味覚受容体は口腔内の味細胞に発現するだけでなく、精巣、小腸、大腸、胃、肝臓、腎臓、膵臓、肝臓、心臓、脊髄など様々な臓器に発現していることが、マウスやブタ

を用いた発現解析から明らかになってきた。2007年、味細胞において甘味受容体として機能するGタンパク質共役型受容体 T1r2/T1r3ヘテロ二量体は、小腸の内分泌細胞で腸管グルコースセンサーとして働き、消化管ホルモ

ン Glucagon-like peptide-1 (GLP-1: インスリン分泌を促進する) 分泌を促進し、隣接する吸収上皮細胞のグルコース取り込みに直接関与するトランスポーター (SGLUT1) の発現量を上昇させ、グルコース吸収を調節していることが明らかにされた。この情報伝達には、味細胞と同様に T1r2/T1r3 と共役する G タンパク質ガストジン、その細胞内情報伝達分子である PLC $\beta$ 2 と Trpm5 が関与している。また、苦味受容体である T2r も腸管に発現することが報告されており、そのファミリー (ヒトで約 26 種類) の 1 塩基多型性 (single nucleotide polymorphisms: SNP) と Amish Family Diabetes Study (AFDS) との相関解析により、T2r9 が 2 型糖尿病の発症に関与しているだけでなく、インスリンやグルコースの代謝不全とも相関していることが報告され、苦味受容体としての機能のみならず、体内の化学物質センサーとしての機能も明らかになってきた。塩味受容体候補である ENaC は、腎臓をはじめとして様々な臓器で電解質調節分子として機能していることはよく知られている。酸味受容体候補である PKD2L1/PKD1L3 は、脊髄の中心管周囲の神経細胞にも発現し、脳脊髄液の pH センサーとして、また、うま味受容体候補である taste-mGluR1 は胃に発現し、グルタミン酸のセンサーとして機能していることも示唆されている。これらのことから、味覚受容体は、口腔のみならず、様々な臓器で、様々な機能をもつ“ポリバレル (多機能) ケモセンサー”である可能性が強く示唆され、さらに生活習慣病をはじめとする様々な臓器疾患に味覚関連分子が関与している可能性が推定された。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、味覚受容に関連する分子が単なる“味覚センサー”ではなく、多面性をもつ“ポリバレルケモセンサー”として、どの臓器で、どのような機能で、どのような疾患と相関があるのかを、明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) まず、バイオインフォマティクスを利用し、疾患関連味覚遺伝子 SNP 候補を決める。(2) 九州大学歯学研究院ならびに医学部付属病院で採取された DNA サンプルを味覚感受性により 2 グループ (高感受性と低感受性) に分け、SNP 連鎖解析を行い、有意差のある SNP を抽出する。(3) これら候補遺伝子と SNP は、統計学的に求められたものであるため、遺伝子変異体を HEK293 細胞に強制発現させて作出した“人工味細胞”を用いて Ca<sup>2+</sup> イメージング法により機能解析を行なう。また組織や様々な臓器の培養細胞系を用いて

RT-PCR、in situ hybridization、免疫染色などによる発現解析を行い、さらに他の機能分子との共発現を解析することで“ポリバレルケモセンサー”としての機能を探る。

## 4. 研究成果

まず疾患関連ゲノム領域データベース情報から関連が示唆される味覚関連分子と SNP を選択した (ゲノムの疾患関連領域に座位し、コーディング領域にマイナーアレル頻度 10% 以上のアミノ酸変異を伴うことを指標とした)。この結果、肥満には、甘味/うま味受容体 T1R1, T1R2, T1R3、インスリン依存性肥満には Trpm5、味覚異常には T1R1, T1R2, T1R3, mGluR1 の SNP がその候補として抽出された。これらの中で、まず味覚感受性に個人差があることが報告されていたうま味 (受容体) に注目して解析を進めた。

うま味受容体の候補としてこれまでに、T1R1, T1r3, mGluR1, mGluR4 が報告されていた。そこでこれらの SNP が味覚感受性 (リガンド結合アフィニティー) に影響するかどうか調べるため、健常者の味覚認知閾値を調べ、候補 SNP との相関を検索した。この結果、T1R1, T1R3 と mGluR1 の 3 つの SNP がうま味感受性に影響している可能性が示唆された。

さらに、T1R1/T1R3 の 2 つの SNPs の影響を詳細に調べるために、HEK293 細胞強制発現系と Ca<sup>2+</sup> イメージング法を組み合わせる機能解析を行った。この結果、T1R1 の 372 番目のアミノ酸 Ala (T1R1-372Ala) が Thr (T1R1-372Thr) になると、うま味物質に対して高感受性の受容体を形成すること、一方、T1R3-752 Arg が Cys になると低感受性の受容体を形成することを明らかにした。また興味深いことに、これらの SNP 頻度には人種差があり、肥満発症頻度が低い中国人や日本人などアジア人では、うま味高感受性の T1r1-372Thr の頻度が高いことがわかった (PLoS One, 2009a, AJCN, 2009)。近年、うま味受容体が消化管にも発現していることや、肥満の女性は、うま味感受性が低いという結果が報告された。以上のことより、うま味受容体は様々な臓器でポリバレルケモセンサーとして働いており、肥満治療の新規ターゲットとなる可能性が示唆された。

## 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 13 件)

- ① Cartoni C, Yasumatsu K, Ohkuri T, Shigemura N, Yoshida R, Godinot N, le Coutre J, Ninomiya Y, Damak S. Taste preference for fatty acids is mediated by GPR40 and GPR120.

J Neurosci. 2010;30(25):8376-82. 査読有

② Jyotaki M, Shigemura N, Ninomiya Y. Modulation of sweet taste sensitivity by orexigenic and anorexigenic factors. Endocr J. 2010;57(6):467-75. 査読有

③ Horio N, Jyotaki M, Yoshida R, Sanematsu K, Shigemura N, Ninomiya Y. New frontiers in gut nutrient sensor research: nutrient sensors in the gastrointestinal tract: modulation of sweet taste sensitivity by leptin. J Pharmacol Sci. 2010;112(1):8-12 査読有

④ Yoshida R, Ohkuri T, Jyotaki M, Yasuo T, Horio N, Yasumatsu K, Sanematsu K, Shigemura N, Yamamoto T, Margolskee RF, Ninomiya Y. Endocannabinoids selectively enhance sweet taste. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107(2):935-9. 査読有

⑤ Yasumatsu K, Ohkuri T, Sanematsu K, Shigemura N, Katsukawa H, Sako N, Ninomiya Y. Genetically-increased taste cell population with G(alpha)-gustducin-coupled sweet receptors is associated with increase of gurmardin-sensitive taste nerve fibers in mice. BMC Neurosci. 2009;10:152. 査読有

⑥ Shigemura N, Shirotsaki S, Sanematsu K, Yoshida R, Ninomiya Y. Genetic and molecular basis of individual differences in human umami taste perception. PLoS One. 2009a;4(8):e6717. 査読有

⑦ Sanematsu K, Horio N, Murata Y, Yoshida R, Ohkuri T, Shigemura N, Ninomiya Y. Modulation and transmission of sweet taste information for energy homeostasis. Ann N Y Acad Sci. 2009;1170:102-6. 査読有

⑧ Yoshida R, Yasumatsu K, Shirotsaki S, Jyotaki M, Horio N, Murata Y, Shigemura N, Nakashima K, Ninomiya Y. Multiple receptor systems for umami taste in mice. Ann N Y Acad Sci. 2009;1170:51-4. 査読有

⑨ Shigemura N, Shirotsaki S, Ohkuri T, Sanematsu K, Islam AA, Ogiwara Y, Kawai M, Yoshida R, Ninomiya Y. Variation in

umami perception and in candidate genes for the umami receptor in mice and humans. Am J Clin Nutr. 2009;90(3):764S-769S. 査読有

⑩ Yoshida R, Miyauchi A, Yasuo T, Jyotaki M, Murata Y, Yasumatsu K, Shigemura N, Yanagawa Y, Obata K, Ueno H, Margolskee RF, Ninomiya Y. Discrimination of taste qualities among mouse fungiform taste bud cells. J Physiol. 2009;587(Pt 18):4425-39. 査読有

⑪ Nakagawa Y, Nagasawa M, Yamada S, Hara A, Mogami H, Nikolaev VO, Lohse MJ, Shigemura N, Ninomiya Y, Kojima I. Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. PLoS One. 2009b;4(4):e5106. 査読有

⑫ Yoshida R, Horio N, Murata Y, Yasumatsu K, Shigemura N, Ninomiya Y. NaCl responsive taste cells in the mouse fungiform taste buds. Neuroscience. 2009;159(2):795-803. 査読有

⑬ Nakamura Y, Sanematsu K, Ohta R, Shirotsaki S, Koyano K, Nonaka K, Shigemura N, Ninomiya Y. Diurnal variation of human sweet taste recognition thresholds is correlated with plasma leptin levels. Diabetes. 2008;57(10):2661-5. 査読有

[学会発表] (計 12 件)

① Shigemura N, Ogiwara Y, Sanematsu K, Kawai M, Yoshida R, Ninomiya Y., Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in taste sensor genes and perceptual diversity., 87th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2010.05.21, Iwate, Japan

② 重村憲徳、城崎慎也、實松敬介、吉田竜介、二ノ宮裕三., ヒト うま味感受性の多様性における遺伝・分子学的基盤., 第 8 回口腔医科学フロンティア学術集会, 2010.03.06, 福岡

③ 重村憲徳., 味覚と肥満., 日本咀嚼学会第 20 回記念学術大会, 2009.10.03, 福岡

④ 二ノ宮裕三、重村憲徳., 味覚センサーの特性と多様性: うま味感受性の個体差と受容体遺伝子多型., 第 51 回歯科基礎医学会,

2009.09.10, 新潟

- ⑤ Shigemura N, Shirotsaki S, Sanematsu K, Ogiwara Y, Kawai M, Yoshida R, Ninomiya Y., Functional analysis of TAS1R1/TAS1R3 umami taste receptor variants., 32th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2009.09.17, Nagoya, Japan
- ⑥ 重村憲徳., ヒトうま味感受性の多様性における遺伝・分子学的基盤., 日本味と匂学会第43回大会, 2009.09.03, 旭川
- ⑦ Shigemura N, Shirotsaki S, Sanematsu K, Ogiwara Y, Kawai M, Yoshida R, Ninomiya Y., Functional expression study of TAS1R1/TAS1R3 receptor variants associated with individual differences in human umami taste sensitivity., 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, 2009.07.31, Kyoto, Japan
- ⑧ Shigemura N, Shirotsaki S, Sanematsu K, Ogiwara Y, Kawai M, Yoshida R, Ninomiya Y., Genetic and Molecular Basis of Individual Differences in human Umami Taste Perception, 31th Annual Meeting of the Association for Chemoreception Sciences, 2009.04.24, Sarasota, USA
- ⑨ Shigemura N, Shirotsaki S, Sanematsu K, Shahid AA Islam, Ogiwara Y, Kawai M, Yoshida R, Ninomiya Y., Relationship between individual differences in umami taste sensitivity and genetic variations of T1r1 and T1r3 in human, 6th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, 2008.12.06, Fukuoka, Japan
- ⑩ Shigemura N., Relationship between individual differences in umami taste sensitivity and genetic variations of T1rs and mGluRs in human, 100th anniversary symposium of umami discovery, International Glutamate Technical Committee, 2008.09.11, Tokyo, Japan
- ⑪ 重村憲徳、イスラムアブ、城崎慎也、實松敬介、荻原葉子、河合美佐子、吉田竜介、二ノ宮裕三., ヒトうま味感受性の多様性とうま味受容体遺伝子多型性との相関., 日本味と匂学会第42回大会, 2008.09.18, 富山
- ⑫ Shigemura N, Yasuo T, Shirotsaki S,

Yasumatsu K, Katsukawa H, Imoto T, Sako N, Ninomiya Y., Genetic alteration of gurnarin sensitivity is associated with formation of both receptor and neural system for sweet taste in mice. International Symposium on Olfaction and Taste, 2008.07.22, San Francisco, USA

〔図書〕 (計5件)

- ① 重村憲徳、二ノ宮裕三., 医学のあゆみ「味覚受容体の構造と機能の多様性」, 医歯薬出版株式会社, 233(9): 875-80, 2010, 290
- ② 吉田竜介、大栗弾宏、重村憲徳、二ノ宮裕三., 実験医学「内因性カンナビノイドの甘味増強作用」, 羊土社, 28(9):1405-8, 2010, 136
- ③ 重村憲徳、二ノ宮裕三., オンラインジャーナル Team Approach スペシャル特集: 糖尿病と歯科疾患の密接な関係「肥満糖尿病と味覚」, ネイチャージャパン株式会社, 2009, <http://www.team-approach.net/myaccount/login.php?forward=/tokushu/article.php?id=50>
- ④ 重村憲徳、二ノ宮裕三., ANTI-AGING MEDICINE「味覚の新知見」, メディカルビュー社, vol.4-5: 14-18, 2008, 136
- ⑤ 重村憲徳、二ノ宮裕三., アンチエイジング医学の基礎と臨床:「味覚とアンチエイジング」, メディカルビュー社, 364-6, 2008, 456

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.dent.kyushu-u.ac.jp/sosiki/a06/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

重村 憲徳 (SHIGEMURA NORIATSU)

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号: 40336079