

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592803

研究課題名(和文) 甘味摂取習慣による味覚感受性の変化

研究課題名(英文) Change of taste sensitivity due to daily intake of sweet solution

## 研究代表者

中野 啓子(安松啓子)(Nakano, Keiko)

九州大学・味覚・嗅覚センサ研究開発センター・准教授

研究者番号：50380704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、継続的な甘味溶液摂取による味覚感受性の変化の詳細と、その現象の分子基盤を解明することを目的とし、2 mM saccharin-Naを蒸留水代わりに与えた実験群マウスと、同期間蒸留水を与えたマウスについて、鼓索神経と舌咽神経の応答と舌の味細胞における甘味関連遺伝子発現を検索した。その結果蒸留水を与えたマウスと比べ2mM saccharin摂取マウス群では、甘味溶液に対する応答が有意に変化し、甘味応答の大きさと関連してT1R3の発現量が変化する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：It is unknown whether habitual intake of sweet beverages causes change of taste sensitivity. To examine taste sensitivity after daily intake of sweet solution, we recorded whole nerve responses in the chorda tympani and glossopharyngeal nerves after mice were given 2 mM saccharin instead of water. Responses to sweet compounds were significantly changed as compare with control mice that were given water. Concomitantly, it was suggested that the expression level of T1R3 mRNA was changed in accordance with change of sweet taste responses.

研究分野：医歯薬学

キーワード：味覚 鼓索神経 舌咽神経 甘味 生活習慣 味覚異常

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトをはじめとして多くの動物はその生体内で不足している物質を美味しいと感じ、好んで摂取する。しかし、この生理的な欲求を逸脱して、不足していないにもかかわらず嗜好性の食品・飲料は多く摂取してしまうことが生活習慣病の成因になっている。したがって、嗜好品を過摂取してしまう生体内のメカニズムも存在しているはずであり、それを解明することは生活習慣病予防のために大変重要である。現在までに報告されている嗜好性の形成のメカニズムは、味覚をはじめとする口腔感覚と、食後の消化管からの栄養情報による食後効果の間の嗜好性連合学習によるものであると思われる。同時に甘味や脂肪は - エンドルフィン等を中枢において放出させ、報酬系を賦活させることで食行動を加速させることも関与しているとされる (Yamamoto et al. 1998; Imaizumi et al. 2000; Sawano et al. 2000)。しかしながら、これらはどの個体にも起こりうる現象であり、生活習慣病の成因はほかにもあると考えられる。現在までは持続的な嗜好性食品を摂取するような生活習慣が嗜好性形成を加速させることを実証するような研究はほとんどなされていない。

### 2. 研究の目的

近年の食生活の変化により摂取する栄養バランスの崩れから生活習慣病や味覚異常が引き起こされていると言われる。しかし、味覚研究において食生活による味覚異常を裏付けるデータはほとんど報告されていない。そこで本研究課題では、継続的な甘味溶液摂取による味覚感受性の変化の詳細と、その現象の分子基盤を解明することを目的としている。

### 3. 研究の方法

(1) マウス味覚神経全線維束応答の記録  
体重 20-30g の C57BL/6 マウスを用い、2 mM saccharin-Na を蒸留水代わりに与えたマウスを実験群マウスとし、同期蒸留水を与えたマウスをコントロール群とする。与える期間を 3、7、14 日と設定した。  
味応答の記録：鼓索神経および、舌咽神経から、以下の方法で応答を記録し解析を行った。ペントバルビタール麻酔下でマウスを固定し、気管にカニューレを装着した。鼓索神経については右側の内側翼突筋を除去後、鼓室に入る直前で鼓索神経を切断および剥離し、舌咽神経については顎二腹筋前腹付近で舌咽神経をまわりの組織から剥離し、銀塩化銀電極に乗せた。舌を囲むフローチャンバーに味刺激溶液を 0.1 ml/s の流速で還流させ、その全神経線維側応答を増幅器、積分計(時定数 1.0 sec)に入力後、得られた波形をパワーボシステムで記録した。刺激時間は鼓索神経 30 秒、舌咽神経 1 分とし、刺激溶液の前後は蒸留水で 1 分間洗浄した。各味刺激に

対する応答は、刺激開始 5 秒後から 20 秒間の平均を求め、0.1 M NH<sub>4</sub>Cl に対する応答の相対値として算出し解析を行った。

味刺激：0.1M NH<sub>4</sub>Cl、0.1M NaCl、0.001-0.01M HCl、0.03-1M L-monopotassium glutamate (MPG)およびそれらのイノシン酸 (IMP)混合溶液、0.02M QHCl、0.01-1M sucrose、1-20mM saccharin-Na などを用いた。

統計解析：repeated ANOVA と post hoc test。

(2)(1)の実験で甘味摂取効果が見られた鼓索神経の単一神経応答の解析

味応答記録：(1)同様の方法で神経を剖出し、鼓索神経を箒状に分離後電極に乗せた。味刺激は(1)と同様で刺激時間は 10 秒とし、刺激溶液の前後は蒸留水で 1 分間洗浄した。

(3)定量的 RT-PCR 解析による甘味関連分子の発現量の測定

mRNA 抽出：ペントバルビタール麻酔下でマウスを安楽死させ舌を切除し、1mg/ml エラスターゼを舌の上皮層直下に注入し、茸状乳頭を含む上皮、有郭乳頭を含む上皮、そして味蕾を含まない上皮の 3 種類を筋組織から剥がして採取した。ホモゲナイズの後 total RNA を抽出した。

定量的 RT-PCR 法：実験群、コントロール群の 3 種類の舌上皮からの total RNA (2µg) を Superscript (Invitrogen) を用いて逆転写反応した。甘味に関連する受容体 T1R3、甘味を増大させる内因性カンナビノイドの合成酵素 DAGL、分解酵素の MAGL の mRNA 発現量を比較し、PCR 増幅については ABI 7500 Sequence detection system (Applied Biosystems)を用い、SYBR Green アッセイにて 95、15 分の denaturing に引き続き 95、30 秒、60、1 分の 40 サイクルの繰り返しにより行った。検索する遺伝子の発現量は アクチンの発現量によって相対値として算出する。それぞれの遺伝子発現量の比較には t-test を用いた。

### 4. 研究成果

感受性変化を起こす摂取期間については、本研究で用いた期間 (3 日、7 日、14 日) の中で 7 日間、14 日間で有意な変化が認められた。2mM saccharin 摂取マウス群では、SC45647, glycine, sucrose, glucose に対する応答とグルタミン酸にイノシン酸を 0.5mM 添加した溶液に対する応答が有意に減少した (Repeated two-way ANOVA: p<0.05)。さらに 2mM saccharin の代わりに、人工甘味料である 0.3mM SC45647 を 7 日間摂取した条件においても、同様の結果を得た。単一神経記録実験では全神経線維束応答の結果と対応して、sucrose に対するインパルス頻度が有意に変化し、濃度応答曲線における最大応答値が変化する可能性が示唆された。さらに栄養状態による影響を見るため、12 週

齢の食事誘導肥満 (DIO) マウスを用いて、2mM saccharin 継続摂取させたところ、体重が 30g 代のマウスでは水摂取マウスに比べて甘味応答が上昇することが分かった。マウスの舌味細胞の定量的 PCR の結果、甘味応答の大きさと関連して T1R3 の発現量が栄養状態と甘味摂取条件により変化する可能性が示唆された。以上の結果より、甘味を継続摂取することにより甘味感受性が変化し、その変化は動物の栄養状態や継続期間によって影響を受けることが示された。

#### 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 9 件)

Niki M, Jyotaki M, Yoshida R, Yasumatsu K, Shigemura N, DiPatrizio NV, Piomelli D, Ninomiya Y, Modulation of sweet taste sensitivities by endogenous leptin and endocannabinoids in mice, *J Physiol (London)*, 査読有, in press  
DOI: 10.1113/JP270295.

Takai S, Yasumatsu K, Inoue M, Iwata S, Yoshida R, Shigemura N, Yanagawa Y, Drucker DJ, Margolskee RF, Ninomiya Y, Glucagon-like peptide-1 is specifically involved in sweet taste transmission, *FASEB J*. 査読有, in press  
DOI: 10.1096/fj.14-265355

Yasumatsu K, Manabe T, Yoshida R, Iwatsuki K, Uneyama H, Takahashi I, Ninomiya Y, Involvement of multiple taste receptors in umami taste: analysis of gustatory nerve responses in metabotropic glutamate receptor 4 knockout mice, *J Physiol (London)*, 査読有, 593(4), 2015, 1021-1034  
DOI: 10.1113/jphysiol.2014.284703.

高井信吾、安松啓子、吉田竜介、重村憲徳、二ノ宮裕三、味神経に発現する GLP-1 レセプターとその役割、*日本味と匂学会誌*、査読有、Vol.21, No.3, 2014, 253-256

Kusuhara Y, Yoshida R, Ohkuri T, Yasumatsu K, Voigt A, Hübner S, Maeda K, Boehm U, Meyerhof W, Ninomiya Y, Taste responses in mice lacking taste receptor subunit T1R1, *J Physiol (London)*, 査読有, Vol.591, 2013, 1967-1985  
DOI: 10.1113/jphysiol.2012.236604.

Shigemura N, Iwata S, Yasumatsu K, Ohkuri T, Horio N, Sanematsu K, Yoshida R, Margolskee RF, Ninomiya Y, Angiotensin II modulates salty and sweet taste

sensitivities, *J Neurosci*, 査読有, Vol.33, 2013, 6267-6277

DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5599-12.2013.

Godinot N, Yasumatsu K, Barcos ME, Pineau N, Ledda M, Viton F, Ninomiya Y, le Coutre J, Damak S (G.N. And K.Y.共筆頭著者), Activation of tongue-expressed GPR40 and GPR120 by non caloric agonists is not sufficient to drive preference in mice, *Neuroscience*, 査読有, Vol.250, 2013, 20-30

DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.06.043.

Yasumatsu K, Ogiwara Y, Takai S, Yoshida R, Iwatsuki K, Torii K, Margolskee RF, Ninomiya Y, Umami taste in mice uses multiple receptors and transduction pathways, *J Physiol (London)*, 査読有, Vol.590, 2012, 1155-1170

DOI: 10.1113/jphysiol.2011.211920

谷口敬祐、安松啓子、安尾敏明、式守道夫、碓 哲崇、ベンゼトニウム塩化物、グルコン酸クロルヘキシジン、アクリノール水和物の舌処理による鼓索神経応答変化の比較、*日本味と匂学会誌*、査読有、Vol.19, No.3, 2012, 329-332

<http://www.jasts.com/wp-content/uploads/IndexJournal19-3.pdf>

[学会発表](計 12 件)

Yasumatsu K, Sako N, Ninomiya Y, Analysis of whole nerve responses in the chorda tympani nerve from mice after daily intake of sweet solution, The 24<sup>th</sup> ECRO, 2014 年 9 月 10-14 日, Dijon France

安松啓子、碓 哲崇、二ノ宮裕三、甘味溶液継続摂取マウスにおける鼓索神経および舌咽神経全線維束応答の解析、第 56 回歯科基礎医学会学術大会、2014 年 9 月 25 - 27 日、福岡

高井信吾、安松啓子、岩田周介、井上真由子、吉田竜介、重村憲徳、Drucker DJ、Margolskee RF、二ノ宮裕三、第 56 回歯科基礎医学会学術大会、シンポジウム 11: 若手の口腔生理学研究最前線、2014 年 9 月 25 - 27 日、福岡

安松啓子、高井信吾、吉田竜介、碓 哲崇、二ノ宮裕三、甘味溶液継続摂取マウスにおける鼓索神経全線維束応答の解析、2014 年 10 月 2 - 4 日、味と匂学会第 48 回大会、静岡

Takai S, Yasumatsu K, Iwata S, Inoue M, Yoshida R, Shigemura N, Ninomiya Y, Glucagon like peptide-1(GLP-1) underlies sweet taste transmission, *Jpn Assoc. Study*

of Taste & Smell 2014, Young Researchers ' SEMINAR, 2014年10月1-4日, Shizuoka

Yasumatsu K, Manabe T, Shigemura N, Iwatsuki K, Takahashi I, Uneyama H, Ninomiya Y, Functional analysis of umami receptors in the chorda tympani and glossopharyngeal nerves from mGluR4 knockout mice, The 23<sup>th</sup> ECR0, 2013年8月26-29日, Leuven, Belgium

安松啓子、真鍋智弘、重村憲徳、岩槻健、高橋一郎、畝山寿之、二ノ宮裕三、mGluR4-KO マウスを用いた鼓索神経および舌咽神経領域におけるうま味受容体の解析、味と匂学会第47回大会、2013年9月5-7日、仙台

安松啓子、重村憲徳、二ノ宮裕三、mGluR4 ノックアウトマウスの鼓索神経および舌咽神経におけるうま味受容体の機能解析、第55回歯科基礎医学会学術大会、2013年9月20-22日、岡山

安松啓子、真鍋智弘、岩槻健、高橋一郎、畝山寿之、二ノ宮裕三、mGluR4-KO マウスの鼓索神経および舌咽神経におけるうま味応答の解析、味と匂学会第46回大会、2012年10月3-5日、大阪

谷口敬祐、安松啓子、安尾敏明、式守道夫、裕 哲崇、ベンゼトニウム塩化物、グルコン酸クロールヘキシジン、アクリノール水和物の舌処理による鼓索神経応答変化の比較、味と匂学会第46回大会、2012年10月3-5日、大阪

裕 哲崇、安松啓子、坂井信之、池西岳樹、新倉祐司、萩森夏芽、スペアミントによる味覚抑制はカルボンに起因する、味と匂学会第46回大会、2012年10月3-5日、大阪

八坂美沙、仁木麻由、安松啓子、中村誠司、二ノ宮裕三、味覚情報伝達物質候補の血中投与によるマウス鼓索神経活動変化について、味と匂学会第46回大会、2012年10月3-5日、大阪

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.rdctos.kyushu-u.ac.jp/accomplishments/index.html>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

中野 啓子(安松啓子)(NAKAN0, Keiko)  
九州大学・味覚・嗅覚センサ研究開発センター・准教授  
研究者番号：50380704

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

二ノ宮 裕三(NINOMIYA, Yuzo)  
九州大学大学院・歯学研究院・教授  
研究者番号：50076048