

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 15 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659828

研究課題名(和文) 減塩食/高塩分食摂取による塩味感受性・嗜好性・唾液成分変化に関わる分子基盤の解明

研究課題名(英文) The study of the molecular bases on differences in salt taste sensitivity, palatability and saliva component induced by low or high sodium diet

研究代表者

重村 憲徳 (Shigemrua, Noriatsu)

九州大学・歯学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40336079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：塩味感受性は外部環境に存在するナトリウム(Na⁺)を検出し、その体内への取り込みに影響する重要な感覚である。体内ナトリウム量が減少すると、血圧調節ホルモンであるアンジオテンシンII濃度が上昇する。本研究により、このアンジオテンシンIIがマウス味細胞に発現する受容体AT1を介して塩味応答を抑制することが分かった。さらに興味深いことに甘味応答を増強させることも分かった。末梢の味覚器にはアンジオテンシンIIによる塩味および甘味感受性調節メカニズムが存在しており、この味覚感受性の変化が体内ナトリウム/グルコースホメオスタシス維持に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Salty taste is a crucial sense for detecting essential minerals, especially sodium ions in the environment and influences sodium intake. Angiotensin II is a key hormone that regulates sodium homeostasis. This study demonstrated that Angiotensin II suppresses amiloride-sensitivity of the mouse gustatory and behavioral responses to NaCl via its receptor AT1 expressed in taste cells. Interestingly, significant increases of taste nerve responses to sweeteners were also observed after the Angiotensin II administration, without effects on the responses to sour, bitter and umami tastants. These results suggest that the regulatory mechanisms by Angiotensin II on the salt and sweet taste sensitivities may exist in peripheral taste organs, contribute to salt and calorie intake, and play important roles in sodium and glucose homeostasis.

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：口腔生理 味覚 ENaC アンジオテンシン アルドステロン

1. 研究開始当初の背景

高血圧症は“生活習慣病”ともいわれるように食塩(NaCl)の過剰摂取、肥満、ストレスなどにより発症が加速される。これには塩味物質への過度な嗜好など食調節系の乱れが関与するものと推定されている。したがって食の健全化を通じて健康を維持するためには、食嗜好性を決定するシステムの分子基盤を解明し、その理解に基づく新たな手段の開発が急務である。

体内におけるナトリウムイオン(Na⁺)は体液浸透圧の保持、神経や筋細胞の興奮、消化管における栄養素吸収作用など生命維持に不可欠な働きを担うため、濃度は常に一定に保たれる必要がある。体液中のNa⁺が低下すると、レニン-アンジオテンシン系(RAS)が活性化し、誘導されるアルドステロンにより腎集合管におけるNa⁺再吸収が促進される。さらに減少すると、生物は塩分を欲求し、“塩味”を手がかりとして外部から摂取することで体内Na⁺バランスは維持される。この食塩飢餓状態のときは塩味感受性が低下し、高濃度食塩水を摂取しやすくなっていることが報告されている。これらのことから、体内Na⁺量の恒常的な維持には、RAS調節ホルモン系のみならず、塩分嗜好性の変化が重要な役割を担っていることが示唆される。この塩分嗜好性については、これまでに脳内のRAS系や脳内心房性ナトリウム利尿ホルモンがその欲求に関与することが報告されているが、末梢でNa⁺を検知する味覚器の関与について、またその分子基盤についてはほとんど明らかではない。

2. 研究の目的

アンジオテンシン II (AngII) は、type1 受容体(AT1)を介して、副腎のみならず血管、脳下垂体、交感神経系などの様々な臓器に直接作用し、また脳室内や血中に投与すると、塩分とくにNa⁺嗜好性を高めることや、その効果は投与後1時間以内にみられることが報告されていた。しかし、味細胞に作用して塩味感受性に影響するかどうかについては明らかではなかった。

塩味感受性の変化については、これまでにアルドステロン(Aldo)投与により塩味感受性が上昇することが報告されていた。これはAldoが味細胞膜を通過し、核内受容体結合に続く、ENaC(アミロライド感受性塩味受容体)合成およびその細胞質から膜への移行亢進によるものと考えられているが、この効果の発現には投与後少なくとも数時間が必要なため、AngII投与による1時間以内のすばやい食塩嗜好性の上昇作用は、このAldoの効果を通じては説明できない。また食塩飢餓状態におけるNa⁺感受性の低下についても説明することができない。

これらのことから、我々は、「AngIIは味細胞に発現するAT1を介して直接作用し、短時間でENaCを介する塩味感受性を抑制するこ

とでNa⁺摂取量を増やし、引き続き誘導されるAldoは、Na⁺の体内への吸収を促進するとともに、塩味感受性を上昇させることでNa⁺摂取をストップさせる。」という仮説を立てて検証を試みた。

3. 研究の方法

実験動物には、高食塩嗜好性/アミロライド高感受性系統C57BL/6マウスを用いた。また、AngIIおよびAldoは体内Na⁺欠乏および水分欠乏時に分泌促進されることが知られているため、正常(非絶水)マウスをコントロールとして、23時間絶水させたマウスも用いて、(1)AngIIおよびAT1特異的阻害剤CV11974投与によるマウスの味神経応答、(2)飲水行動応答の変化について解析を行なった。また、(3)免疫組織化学的手法をもちいて、味細胞におけるAT1受容体と味細胞マーカーとの共発現解析を行なった。最後に、(4)AngIIによる味覚修飾分子メカニズム解明のために、内因性カンナビノイド受容体CB1遺伝子欠損マウスをもちいて、味神経応答解析を行なった。

4. 研究成果

(1)マウスの味神経応答の解析では、AngII腹腔内投与により、C57BLマウスの鼓索神経NaCl応答(アミロライド感受性:AS成分)が有意に減少することが明らかとなった。この効果は、投与5分後にみられ、30分後にピークを示し、その後コントロールレベルに戻った。また興味深いことに投与後90-120分ではAS成分の応答の増強がみられ、この効果はAngIIにより誘導されたAldoの効果である可能性が推定された。さらに驚いたことに甘味応答が上昇することも明らかとなった。その他の味質である酸味、苦味やうま味応答には影響はみられなかった。これらの効果はAT1特異的阻害剤であるCV1197414前処理により消失した。

(2)23時間絶水マウスの行動応答の解析ではAT1阻害剤投与により、食塩および甘味溶液の飲水量が有意に減少した。このことは、絶水により血中AngII濃度が上昇し、これに伴って減少していたNaCl感受性がAT1阻害剤投与でもとに戻る(感受性上昇)ことにより高濃度食塩水に対する飲水量が減少したと考えられた。また、甘味溶液にも同様に、絶水により血中AngII濃度が上昇し、これに伴って上昇していた甘味感受性がAT1阻害剤投与でもとに戻る(感受性減少)ことにより甘味溶液に対する飲水量が減少したと考えられた。以上の結果より、AngIIは神経応答のみならず摂取行動にもクリティカルに影響することが明らかとなり、その効果はAT1を介している可能性が示唆された。

(3)味細胞における発現解析では、AT1蛋白はENaCもしくはT1r3(甘味受容体構成成分

子)と一部共発現することが確認された。これまでの研究から、塩味受容と甘味受容は別々の味細胞群で行なわれていることが明らかとなっているため、AngIIによるAS塩味感受性の抑制効果と甘味感受性の増強効果はそれぞれ独立した味細胞経路で起こっている可能性が予想された。

(4)甘味感受性は内因性カンナビノイドによりその受容体CB1を介して増強されることが明らかとなっており、またCB1はAT1と複合体をつくることや、AT1を介して活性化されることが報告されていたので、AngIIによる甘味増強効果にCB1が関与している可能性が推定された。そこで、CB1欠損マウスを用いて味神経応答を解析した結果、AngII投与により、AS塩味感受性の抑制効果は野生型マウスと同様にみられたが、甘味増強効果はみられなかった。これらのことから、AngIIによる甘味増強はCB1を介していること、そして塩味抑制と甘味増強は独立した経路で生じていることが明らかとなった。

以上の結果から、Angは体内Na⁺欠乏時には中枢や腎臓のみならず味細胞にもAT1を介して直接作用し、すばやくAS塩味感受性を特異的に抑制することで塩味嗜好性を上げ、Na⁺摂取量を増やし(急性相)、摂取後にはAngIIに誘導されたAldoが味細胞におけるENaCの膜発現量を増やし、AS塩味感受性を上げることで嗜好性を下げNa⁺摂取量を抑え、同時に消化管でのNa⁺吸収を促進する(遅延相)という味覚を介した経時的かつ実合目的なNa⁺摂取調節メカニズムが存在する可能性が示唆された。さらに甘味感受性を上げることでNa⁺と同時に糖の摂取量も高めている可能性が示唆され、塩味感受性が関与する体内Na⁺維持機構と甘味感受性が関与する体内糖維持機構がAngIIを介してクロストークしている可能性が示唆された。肥満者の高血圧の発症率は非肥満者の2~3倍高いことが知られているが、この背景にこの味覚器におけるアンジオテンシンIIを介したクロストークが関与する可能性が予想された。

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 2件)

Angiotensin II modulates salty and sweet taste sensitivities.

Shigemura N, Iwata S, Yasumatsu K, Ohkuri T, Horio N, Sanematsu K, Yoshida R, Margolske RF, Ninomiya Y.

J Neurosci. 2013;33(15):6267-77

ISSN: 0270-6474

Modulation of sweet responses of taste receptor cells.

Yoshida R, Niki M, Jyotaki M, Sanematsu K, Shigemura N, Ninomiya Y.

Semin Cell Dev Biol. 2013;24(3):226-31

ISSN: 1084-9521

〔学会発表〕(計 31件)

口腔と腸管における甘味シグナリング:レプチン,内因性カンナビノイド,GLP-1の機能的役割.

吉田竜介,上瀧将史,高井信吾,重村憲徳,二ノ宮裕三.

第91回日本生理学会大会(鹿児島),2014.03,審査有,口頭

味蕾から分泌されるGLP-1は甘味特異的な情報伝達に關与する.

高井信吾,安松啓子,井上真由子,岩田周介,吉田竜介,重村憲徳,ドラッカーJD,マルゴルスキーRF,二ノ宮裕三.

第91回日本生理学会大会(鹿児島),2014.03,審査有,口頭

ホルモンによる塩味および甘味感受性調節.

重村憲徳,吉田竜介,安松啓子,大栗弾宏,岩田周介,高井信吾,上瀧将史,仁木麻由,實松敬介,二ノ宮裕三.

第91回日本生理学会大会(鹿児島),2014.03,審査有,口頭

GLP-1 may be involved in sweet specific taste transmission from taste cells to gustatory nerve fibers.

Takai S, Yasumatsu K, Iwata S, Inoue M, Yoshida R, Shigemura N, Ninomiya Y.

11th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (Fukuoka, Japan), 2013.10,審査有,口頭

ホルモンによる味覚修飾と摂食調節.

重村憲徳,吉田竜介,安松啓子,大栗弾宏,岩田周介,高井信吾,上瀧将史,仁木麻由,實松敬介,二ノ宮裕三.

日本味と匂学会第47回大会(仙台),2013.09,審査有,口頭

マウス味蕾における甘味特異的なGLP-1の分泌.

高井信吾,安松啓子,仁木麻由,吉田竜介,重村憲徳,二ノ宮裕三.

日本味と匂学会第47回大会(仙台),2013.09,審査有,ポスター

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舌のうま味受容体の解析.

安松啓子,真鍋智宏,重村憲徳,岩槻健,高橋一郎,畝山寿之,二ノ宮裕三.

日本味と匂学会第47回大会(仙台),2013.09,審査有,ポスター

CCKのマウス鼓索神経活動に及ぼす効果.

八坂美沙,安松啓子,仁木麻由,重村憲徳,瀧口総一,中村誠司,二ノ宮裕三.

日本味と匂学会第47回大会(仙台),2013.09,審査有,ポスター

T1R3 発現味細胞における ATP 感受性 K⁺チャネルの薬理的解析.
吉田竜介, 上瀧将史, 高井信吾, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
日本味と匂学会第 47 回大会 (仙台), 2013.09, 審査有, ポスター
ギムネマ酸の甘味抑制メカニズム.
實松敬介, 日下部裕子, 重村憲徳, 広川貴次, 井本敏明, 二ノ宮裕三.
日本味と匂学会第 47 回大会 (仙台), 2013.09, 審査有, ポスター
マウス味蕾における甘味特異的な GLP-1 の分泌.
高井信吾, 安松啓子, 吉田竜介, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
第 55 回歯科基礎医学会 (岡山), 2013.09, 審査有, ポスター
GLP-1 受容体欠損マウスにおける選択的甘味抑制について.
岩田周介, 安松啓子, 高井信吾, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
第 55 回歯科基礎医学会 (岡山), 2013.09, 審査有, ポスター
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.
安松啓子, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
第 55 回歯科基礎医学会 (岡山), 2013.09, 審査有, ポスター
CCK のマウス鼓索神経活動に及ぼす影響.
八坂美沙, 安松啓子, 仁木麻由, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
第 55 回歯科基礎医学会 (岡山), 2013.09, 審査有, ポスター
Modulation of sweet taste sensitivities by leptin and endocannabinoids.
Yoshida R, Niki M, Jyotaki M, Ohkuri T, Shigemura N, Ninomiya Y.
21st Society for the Study of Ingestive Behavior (New Orleans, USA), 2013.07, 審査有, ポスター
Leptin and cannabinoids modulate sweet sensitivities of enteroendocrine STC-1 cells.
Jyotaki M, Yoshida R, Sanematsu K, Shigemura N, Ninomiya Y.
21st Society for the Study of Ingestive Behavior (New Orleans, USA), 2013.07, 審査有, ポスター
Taste perception and food intake.
Shigemura N. The 86th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society (Fukuoka, Japan), 2013.03, 審査有, 口頭
Endogenous humoral modulators of behavioral preference for sweet and salty tastes.
Ninomiya Y, Niki M, Yoshida R, Shigemura N.
第 90 回日本生理学会大会 (東京), 2013.03, 審査有, 口頭

肥満者におけるレプチンおよび味覚日内変動の検索.
實松敬介, 北川昌幸, 中村由紀, 野村政壽, 重村憲徳, 二ノ宮裕三
日本味と匂学会第 46 回大会 (大阪), 2012.10, 審査有, ポスター
腸管内分泌細胞の味覚感受性に対するカンナビノイドの効果.
上瀧将史, 實松敬介, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
日本味と匂学会第 46 回大会 (大阪), 2012.10, 審査有, ポスター
②マウス味蕾における GIP の発現.
高井信吾, 仁木麻由, 吉田竜介, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
日本味と匂学会第 46 回大会 (大阪), 2012.10, 審査有, ポスター
②GLP-1 受容体欠損マウスにおける選択的甘味抑制について.
岩田周介, 高井信吾, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
日本味と匂学会第 46 回大会 (大阪), 2012.10, 審査有, ポスター
③塩の味覚のメカニズム. 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
第 35 回日本高血圧学会総会 (名古屋), 2012.09, 審査有, 口頭
④マウス味蕾におけるインスリン分泌ホルモンの発現.
高井信吾, 仁木麻由, 吉田竜介, 重村憲徳, 二ノ宮裕三.
第 54 回歯科基礎医学会 (郡山), 2012.09, 審査有, ポスター
⑤Modulation of sweet taste sensitivities by anorexigenic and orexigenic factors in mice.
Ninomiya Y, Niki M, Yoshida R, Shigemura N.
日本比較生理生化学会第 34 回大会 (葉山), 2012.07, 審査有, 口頭
⑥ Peripheral modulation of taste responses by angiotensin II.
Shigemura N, Ohkuri T, Horio N, Iwata K, Yasumatsu K, Ninomiya Y.
20th Society for the Study of Ingestive Behavior (Zurich, Switzerland), 2012.07, 審査有, ポスター
⑦Modulation of sensitivities of oral and gut taste sensors by endogenous factors.
Ninomiya Y, Niki M, Jyotaki M, Shigemura N, Ohkuri T, Yoshida R.
16th The international symposium on olfaction and taste (Stockholm, Sweden), 2012.06, 審査有, 口頭
⑧ Angiotensin II signaling modulates taste responsiveness in mice.
Shigemura N, Ohkuri T, Horio N, Iwata S, Yasumatsu K, Ninomiya Y.
16th The international symposium on olfaction and taste (Stockholm, Sweden),

2012.06,審査有,ポスター

②⑨ Lack of diurnal variation of sweet recognition thresholds in over-weight and obese subjects.

Sanematsu K, Kitagawa M, Nakamura Y, Nomura M, Shigemura N, Kukita T.

16th The international symposium on olfaction and taste (Stockholm, Sweden), 2012.06,審査有,ポスター

③⑩ Angiotensin II modulates taste sensitivities in mice.

Shigemura N, Ohkuri T, Horio N, Iwata S, Yasumatsu K, Ninomiya Y.

34th The Association for Chemoreception Sciences (Huntington Beach, USA), 2012.04, 審査有,ポスター

③⑪ Diurnal variation of plasma leptin levels and taste recognition thresholds in over-weight and obese subjects.

Sanematsu K, Kitagawa M, Nakanura Y, Nomura M, Shigemura N, Ninomiya Y.

34th The Association for Chemoreception Sciences (Huntington Beach, USA), 2012.04, 審査有,ポスター

〔図書〕(計 3件)

重村憲徳,

8020 会誌, サイエンス「味覚のメカニズムと肥満」, 公益財団法人 8020 推進財団, 13,58-63,2014.01.

重村憲徳, 二ノ宮裕三,

G.I. Research, 特集 消化管栄養素センサー研究の新展開: 口腔内化学受容: 味覚, 先端医学社, 21(2):120-125, 2013.03.

重村憲徳, 實松敬介, 二ノ宮裕三,

内分泌・糖代謝・代謝内科「レプチンによる甘味感受性制御」, 科学評論社, 34(4):371-378, 2012.04.

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

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

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: