

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26242007

研究課題名(和文) 味物質シグナルの末梢応答・中枢認知・その連動系の解析および食と健康の科学への活用

研究課題名(英文) Peripheral Response to Tastant Signals and Central Cognition for Analysis of Their Coordination and its Application to the Science of Food for Life

研究代表者

阿部 啓子 (Abe, Keiko)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任教授

研究者番号：10151094

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,700,000円

研究成果の概要(和文)：転写因子Skn-1 KOマウス(S-KO)はWTマウス(WT)と摂食量が同等でも、S-KOは同腹仔のWTに比べ体脂肪の低下を伴う顕著な低体重を示した。その原因としてS-KOでは、運動量には遺伝子型の違いによる差はなく、血圧低下、腓腹筋ミトコンドリアコピー数の増加など恒常的に脂質分解亢進が示唆された。また、インスリン分泌量は有意に低値を示し、尿中カテコールアミンの排泄量が有意に増加した。低体重の原因としてカテコールアミン分泌の促進を介する脂質分解の誘導が生じると推定した。

研究成果の概要(英文)：We constructed Skn-1a knocked-out (S-KO) mice and found the absence of this transcription factor in the gut. The S-KO mice and wild type (WT) mice were similar in diet intake, but the former mice were distinctly lower than the latter mice in terms of body weight. While there was no difference in lipid absorption between S-KO and WT mice, the S-KO mice were characterized by a larger degree of obesity suppression at the age of 16 weeks. The S-KO mice were also characterized by the activation of hyperpressure and gastrocnemius mitochondrial copy number. Also, an oral glucose charge test showed that there was no blood glucose level difference between S-KO and WT mice, the former mice had a larger insulin secretion. This means that the lower body weight observed for S-KO mice is due to catecholamine-induced activation of lipolysis.

研究分野：食と生命科学

キーワード：味覚シグナル Skn-1マウス 刷子細胞 味物質科学 エネルギー代謝 食品機能 食と栄養 脳腸軸

## 1. 研究開始当初の背景

味覚は動物が適正な摂食行動を行なう上で、そしてヒトが高度の食文化を形成し、近代食品産業を発展させる基盤として、きわめて重要な要因である。味覚は食品中の味物質が口腔内の味蕾の味細胞で受容され、味神経を介して伝達され、中枢で認知される感覚である。味覚研究はこれまで、味蕾・味神経・中枢の3ステージのうち、味蕾に焦点を当てた研究がほとんどであった。

筆者らは甘・旨・苦味細胞の分化を決定する因子 *Skn-1* を特定することに成功した (*Nature Neurosci.* 2011)。その *KO* マウス味蕾では甘・旨・苦味受容細胞が完全に消失し、これらの味を受容できない。最近、*S-KO* マウスでは消化管 brush cell も消失していることを見出した。

## 2. 研究の目的

味物質シグナリングの事象を (1) 末梢受容の解析、(2) 中枢認知の解析、(3) 末梢受容と中枢認知の連動性の解析に類型化して研究する。

(1) は口腔における塩味受容機構、塩味測定系構築、これによる塩味エンハンサー探索、消化管における糖 (炭水化物) センサー細胞機能の解明、(2) は基本5味 (甘・苦・旨・酸・塩味) や咀嚼などの口腔刺激に伴って活性化される中枢部位の特定とその活性化機構の分子・細胞学的解析、(3) は味覚と嗜好性、味物質とエネルギー代謝など末梢組織から中枢認知領域の同定と生理学・神経科学的解析、そして中枢から末梢組織へのフィードバック機構を解析する研究を実施する。最終的にはこれらの連動性を総合的に考究し、味物質感覚という生体事象が生命に及ぼす必然的意義を解明し、ライフサイエンスの重要な一翼の研究の発展に貢献する。

## 3. 研究の方法

### (1) 末梢受容の解析

#### ①口腔：塩味受容機構の解析

低濃度の食塩受容に関わる分子ヒト *ENaC*  $\alpha, \beta, \gamma$  を *HEK* 細胞に膜電位感受性色素を負荷し、リガンド溶液の添加に伴う膜電位変化を蛍光強度の変化値として測定する系を構築する。この系を用いて、ケミカルライブラリー (東大創薬イノベーションセンター) から塩味増強物質をスクリーニングし、構造・活性相関を解析する。

#### ②消化管：Brush cell の機能解析

野生型および *Skn-1 KO* マウスを用いて、小腸、膵臓、胃、大腸における *Skn-1* の発現を *in situ hybridization*・抗体染色により行う。さらに brush cell の特性を特徴づける遺伝子群をマイクロアレイ法・*mRNA-seq* 法により解析する。とくに糖受容体・G タンパク

質などの味覚シグナリング分子を探索する。*Brush cell* を消失した *Skn-1KO* マウスのフェノタイプを栄養学的視点 (体重、内蔵脂肪量、筋量、筋ミトコンドリア量など) から解析する。

### (2) 中枢認知の解析

咀嚼による脳内活性化：固形あるいは粉の餌を長期 (4 ケ月) および短期 (10 日間) 摂取したラットの脳機能を活動試験、視床および血液の遺伝子発現により解析する。

### (3) 末梢受容と中枢認知の連動性の解析

#### ①味覚と嗜好性の連動性

味が食欲に関連するかを解析するために、筆者らが作成した甘・旨・苦味を受容できないマウス *Skn-1 KO* を使用する。甘味 (sucrose) 有無の、あるいは苦味 (デナトニウム) 有無の *AIN93G* 餌を *Skn-1 KO* マウスに投与し、摂食量を測定する。

#### ②味物質とエネルギー代謝の連動性

*S-KO* および野生型マウスにおける摂食量 (高脂肪食) と消費エネルギー量の関連を解析する。さらに肝臓、脂肪組織、筋肉、視床下部などの遺伝子発現解析を行い、総合的エネルギー代謝を解析する。*brush cell* に発現するチャネル、トランスポーター、*GPCR* の探索を次世代シーケンサーを用いて解析する。

## 4. 研究成果

### (1) 末梢受容の解析

#### ①口腔：塩味受容機構の解析

ケミカルライブラリーから *hENaC* 活性化剤として見出した 10 個の化合物について活性・構造相関解析を行った。

これらにはインドール環、フェニル基、スルホンアミド、カルボキシフェニル基などの構造が共通であることから、*hENaC* を活性化する部分構造であると推定した。

#### ②消化管：brush cell の機能解析

*Skn-1a* は味蕾、胃、小腸などの消化管に発現しており、膵臓、ランゲルハンス島、脳、肝臓、筋肉、*WAT*、*BAT* などの脳・内臓には発現は観察されなかった (*EBioMedicine* 2016)

(図 1)。

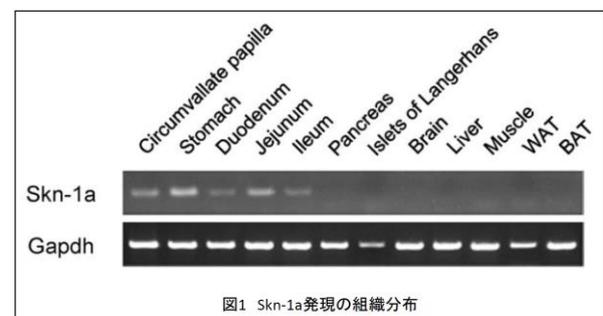


図1 *Skn-1a* 発現の組織分布

(2) 中枢認知：固形餌あるいは粉餌を 4 ケ月間摂取させたラット視床における遺伝子発現プロファイルは両者間で大きく異なった。一

方、海馬、視床下部、小脳の遺伝子発現は両者間で大きな変化は観察されなかった。

### (3) 末梢受容と中枢認知の連動性の解析

#### ① 味覚と嗜好性の連動性

甘味 (sucrose) 有無の AIN 93G 餌の摂食量は S-KO マウスおよび野生型マウスにおいて有意差は見られなかった。一方、野生型マウスは苦味 (デナトニウム) 添加 AIN 93G 餌の摂食量はコントロール (無添加 AIN 93G 餌) に比べ、有意に低下したが、S-KO マウスでは認められなかった。マウスの総摂餌量には嗜好性より忌避性が影響すると推定された。

#### ② 味物質とエネルギー代謝の連動性

通常飼育条件下においては S-KO の摂食量は同腹仔の WT マウス (WT) と同等であった。しかし、S-KO は WT に比べ、体脂肪の低下を伴う顕著な低体重を示した (図 2)。

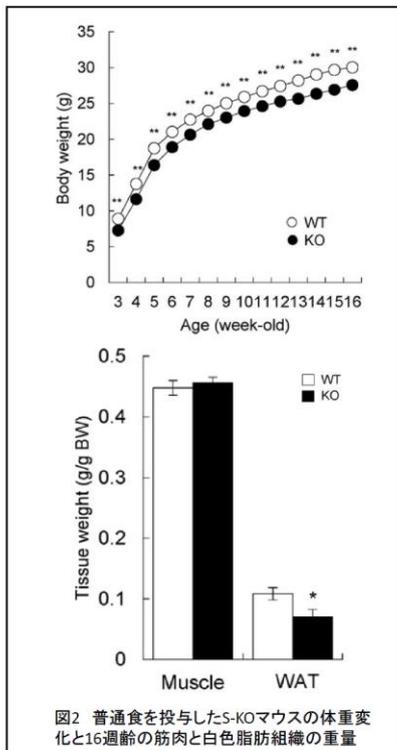


図2 普通食を投与したS-KOマウスの体重変化と16週齢の筋肉と白色脂肪組織の重量

その原因について検討したところ、運動量には遺伝子型の違いによる差はなく、呼吸交換比の低下、エネルギー消費量の上昇 (図 3)、

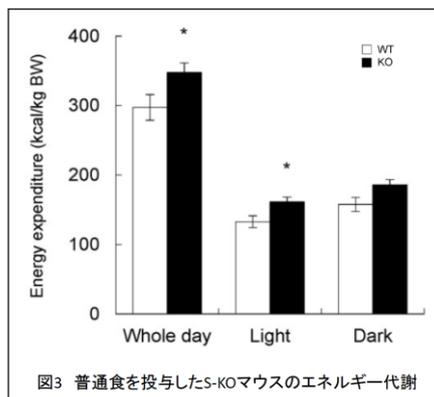


図3 普通食を投与したS-KOマウスのエネルギー代謝

血中ケトン体の上昇 (図 4) 等が観察され、S-KO において脂肪分解が亢進している可能性が示唆された。

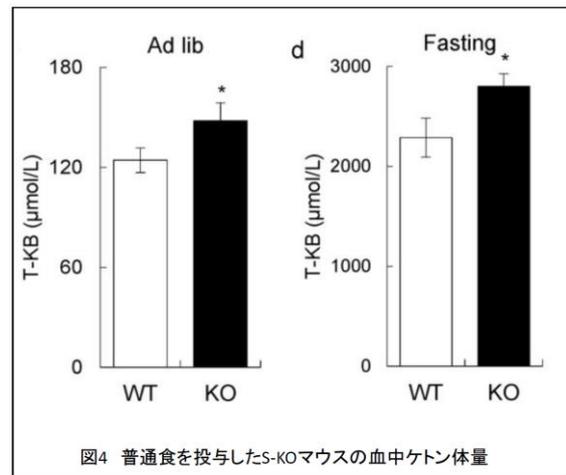


図4 普通食を投与したS-KOマウスの血中ケトン体量

高脂肪食投与では脂質吸収量に差はないが、16週令時点で WT (約 40g) に比べ、S-KO (約 30g) は肥満の発症が大幅に抑制された (図 5)。

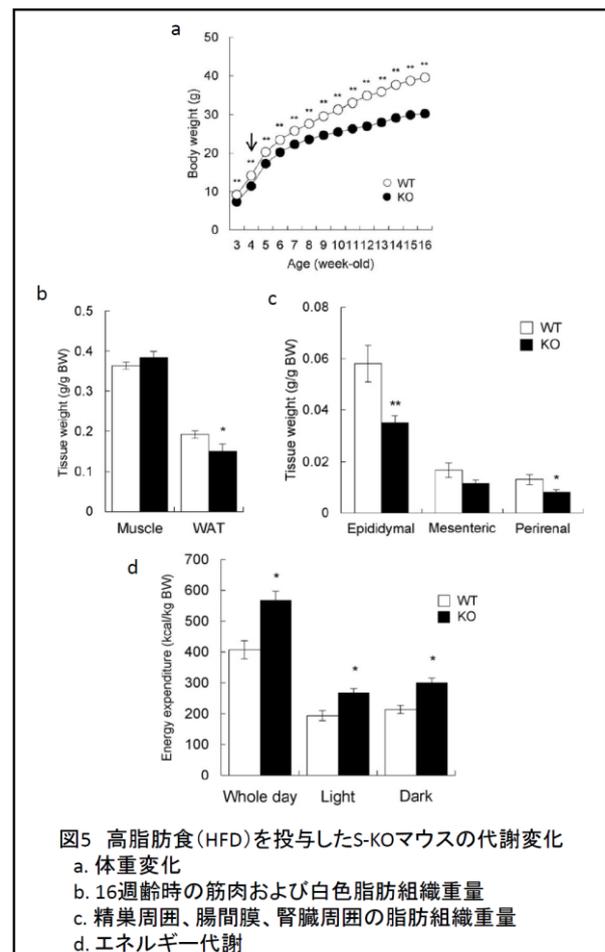


図5 高脂肪食 (HFD) を投与したS-KOマウスの代謝変化  
a. 体重変化  
b. 16週齢時の筋肉および白色脂肪組織重量  
c. 精巣周囲、腸間膜、腎臓周囲の脂肪組織重量  
d. エネルギー代謝

また、心拍数、直腸温に変化はないが、血圧低下、腓腹筋ミトコンドリアコピー数の増加などの表現型が観察された。以上の結果より、S-KO において恒常的に脂質分解が亢進し、

産生されたケトン体が筋肉のミトコンドリアで消費される経路の存在が示唆された。また、経口グルコース負荷試験 (OGTT) において、WT に比べ S-KO の血糖値に変化はないが、インスリン分泌量は有意に低値を示した (図 6)。

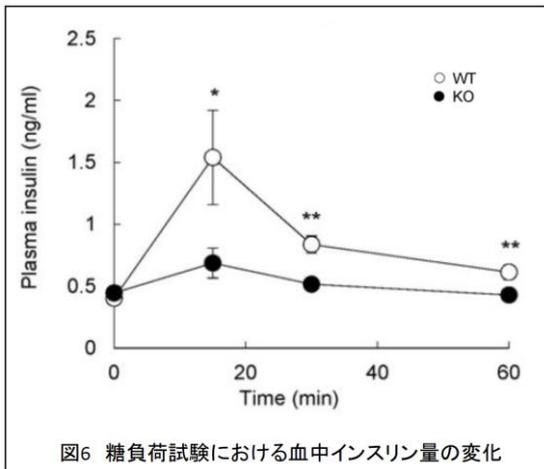


図6 糖負荷試験における血中インスリン量の変化

脳から脂質代謝を調節する因子である血清中甲状腺ホルモンには変化が見られなかったが、尿中カテコールアミンの排泄量が S-KO で有意に増加した(図 7)。

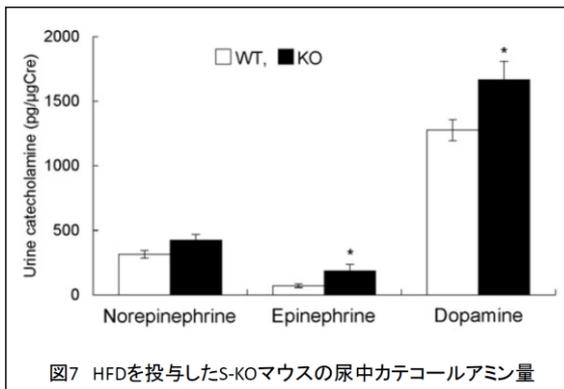


図7 HFDを投与したS-KOマウスの尿中カテコールアミン量

低体重の原因としてカテコールアミン分泌の促進を介する脂質分解の誘導が生じると推定した (図 8)。

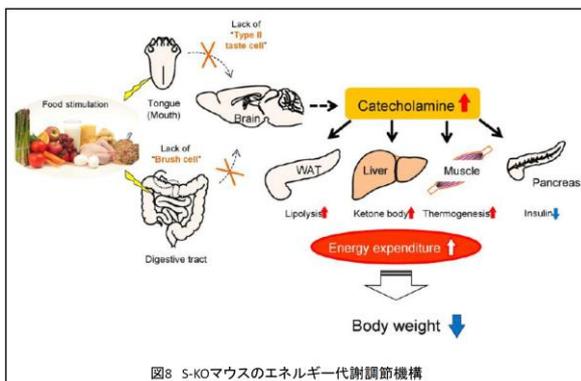


図8 S-KOマウスのエネルギー代謝調節機構

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 28 件) すべて査読 有り

- Ushiyama, S., Ishimaru, Y., Narukawa, M., Yoshioka, M., Kozuka, C., Watanabe, N., Tsunoda, M., Osakabe, N., Asakura, T., Masuzaki, H., and Abe, K. Catecholamines facilitate fuel expenditure and protect against obesity via a novel network of the gut-brain axis in transcription factor *Skn-1*-deficient mice. *EBioMedicine* 8, 60-71 (2016).  
[https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.04.031]
- Soulika, M., Kaushik, A-L., Mathieu, B., Lourenco, R., Komisarczuk, A.Z., Romano, S.A., Jouary, A., Lardinois, A., Tissot, N., Okada, S., Abe, K., Becker, T.S., and Kapsimali, M. Diversity in cell motility reveals the dynamic nature of the formation of zebrafish taste sensory organs. *Development* 143, 2012-2024 (2016). [doi: 10.1242/dev.134817]
- Maeda, N., Ohmoto, M., Yamamoto, K., Kurokawa, A., Narukawa, M., Ishimaru, Y., Misaka, T., Matsumoto, I., and Abe, K. Expression of serotonin receptor genes in cranial ganglia. *Neuroscience Lett.* 617, 46-51 (2016). [doi: 10.1016/j.neulet.2016.01.050]
- Ogasawara, Y., Mochimaru, S., Ueda, R., Ban, M., Kabuto, S., and Abe, K. Preparation of an Aroma Fraction from Dried Bonito by Steam Distillation and Its Effect on Modification of Salty and Umami Taste Qualities. *J. Food Sci.* 81(2), C308-316 (2016). [DOI:10.1111/1750-3841.13194]
- Oda, Y., Ueda, F., Utsuyama, M., Kamei, A., Kakinuma, C., Abe, K., and Hirokawa, K. Improvement in human immune function with changes in intestinal microbiota by *Salacia reticulata* extract ingestion: a randomized placebo-controlled trial. *PLoS ONE* 10(12), e0142909 (2015). [doi: 10.1371/journal.pone.0142909]
- Ogi, K., Yamashita, H., Terada, T., Homma, R., Shimizu-Ibuka, A., Yoshimura, E., Ishimaru, Y., Abe, K., and Asakura, T. Long-Chain Fatty Acids Elicit a Bitterness-Masking Effect on Quinine and Other Nitrogenous Bitter Substances by Formation of Insoluble Binary Complexes. *J. Agric. Food Chem.* 63(38), 8493-8500 (2015). [DOI: 10.1021/acs.jafc.5b03193]
- Abe, K. Functional food science in Japan: Present state and perspectives. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 61, S201 (2015). [doi: 10.3177/jnsv.61.S201]

8. Suzuki-Hashido, N., Hayakawa, T., Matsui, A., Go, Y., Ishimaru, Y., Misaka, T., Abe, K., Hirai, H., Satta, Y., and Imai, H. Rapid expansion of phenylthiocarbamide non-tasters among Japanese macaques. *PLoS ONE* 22, e0132016 (2015). [DOI: 10.1371/journal.pone.0132016]
  9. Koizumi, T., Terada, T., Nakajima, K., Kojima, M., Koshihara, S., Matsumura, Y., Kaneda, K., Asakura, T., Shimizu, A., Abe, K., and Misaka, T. Identification of key neoculin residues responsible for the binding and activation of the sweet taste receptor. *Sci. Rep.* 5:12947 (2015). [doi:10.1038/srep12947]
  10. Ohkubo, T., Tamiya, M., Abe, K., and Ishiguro, M. Structural basis of pH dependence of Neoculin, a sweet taste-modifying protein. *PLoS ONE* 10(5): e0126921 (2015). [doi:10.1371/journal.pone.0126921]
  11. Kurokawa, A., Narukawa, M., Ohmoto, M., Yoshimoto, J., Abe, K., and Misaka, T. Expression of the synaptic exocytosis-regulating molecule complexin 2 in taste buds and its participation in peripheral taste transduction. *J. Neurochem.* 133, 806-814 (2015). [doi: 10.1111/jnc.13073].
  12. Nekohashi, M., Ogawa, M., Ogihara, T., Nakazawa, K., Kato, H., Misaka, T., Abe, K., and Kobayashi, S. Luteolin and Quercetin affect the cholesterol absorption mediated by epithelial cholesterol transporter niemann–Pick C1 Like 1 in Caco-2 cells and rats. *PLoS ONE* 9, e97901 (2014). [DOI: 10.1371/journal.pone.0097901]
- 〔学会発表〕（計 122 件）
1. 高橋健、阿部啓子、岡田晋治「小型魚類メダカを用いた苦味受容機構解析系の構築」日本農芸化学会 2017 大会、2017. 03. 18、ウェスティン都ホテル京都（京都府、京都市）
  2. 谷下道大、成川真隆、石渡賢治、吉岡美紗子、朝倉富子、嘉糠洋陸、阿部啓子、石丸喜朗「小腸刷子細胞に発現する遺伝子の生体内機能の検証」日本農芸化学会 2017 大会、2017. 03. 18、ウェスティン都ホテル京都（京都府、京都市）
  3. 阿部啓子「“食による生体恒常性維持の指標となる未病マーカーの探索戦略”委員会の目指すところ」JSPS 先導的研究開発委員会・第 1 回委員会、2017. 03. 07、中島董一郎記念ホール（東京都、文京区）
  4. 阿部啓子「消化管刷子細胞を介するエネルギー代謝」第 20 回日本病態栄養学会年次学術集会-シンポジウム 16：食欲に関連するシグナル、2017. 01. 15、京都国際会館（京都府、京都市）
5. 阿部啓子「美味しさと味覚の本質をさぐる」静岡フーズ・サイエンスリーディング・アドバイザリー会議：おいしいフーズ・サイエンスフォーラム、2016. 11. 24、静岡県男女共同参画センター（静岡県、静岡市）
  6. 阿部啓子「味覚シグナルと消化管機能は連動してエネルギー代謝を調節する」日本栄養・食糧学会中部支部、2016.11.19、岐阜大学（岐阜県、岐阜市）
  7. 阿部啓子「統合食品科学の新たな息吹-とくに味覚研究を例として “A new breath of integrated food science in special reference to taste research”、健康と食品に関する新潟国際会議、2016.11.11、新潟コンベンションセンター（新潟県、新潟市）
  8. 阿部啓子「おいしさと健康機能の研究」東京大学フードサイエンス棟と中島董商店・キューピ-交流会、2016. 08. 17、中島董一郎記念ホール（東京都、文京区）
  9. 阿部啓子「シンポジウム 10 味のサイエンス[味のサイエンス]について」第 19 回日本病態栄養学会、2016.01.10、パシフィコ横浜（神奈川県、横浜市）
  10. Abe, K. “Functional Foods— History and Perspective” ICoFF 2015, 2015.11.22-25, Seoul (Korea)
  11. 阿部啓子「甘味認知とエネルギー代謝」第 36 回 日本肥満学会、2015.10.02、名古屋国際会議場（愛知県、名古屋市）
  12. 阿部啓子「次世代機能性食品の主軸は味覚・嗅覚の基礎研究」第 9 回食香粧研究会シンポジウム、2015. 09. 12、東京農業大学（東京都、世田谷区）
  13. 阿部啓子「味覚シグナルとエネルギー代謝」和歌山県立医科大学学術講演会、2015.08.29、和歌山県立医科大学（和歌山県、和歌山市）
  14. Abe, K. “Functional Food Science in Japan: Present State and Perspectives” ACN 2015: 12th Asian Congress of Nutrition, 2015.05.14, パシフィコ横浜（神奈川県、横浜市）
- 〔図書〕（計 6 件）
1. 阿部啓子：日本における“食と健康”研究-味覚科学の位置づけ (New Wave of the science of Food and Health in Japan: Position of Taste Research) 総説特集 味覚に関する ISOT サテライトシンポジウム：日本味と匂学会誌 23, No. 2 pp. 89-94 (総頁数 139p) (2016 11 月)
  2. 阿部啓子：食品の味と味覚 日本醸造協会誌 111, p569 (総頁数 636p) (2016 年 9 月号)

3. Abe, K.: Kanagawa Prefectural Government, Promoting health through ME-BY0: “Spotlight on Food Science in Japan” p10-11, Nature Publishing group (総頁数 24p) (2016).
4. 阿部啓子: SIP 次世代農林水産業創造技術② 機能性農林水産物・食品開発の主要分野とは Agrio 時事通信社 第 0105 号, p15(総頁数 27p) (2016 年 4 月 12 日)
5. 櫻井敬展、阿部啓子: 培養細胞評価系を用いた食味評価 (Evaluation of Taste Using Cell-Based Assay) BIO INDUSTRY シーエムシー出版 32, No.16, 17-24 (総頁数 58p) (2015).
6. 安岡顕人、荒井綜一、阿部啓子: 食の三次機能とニュートリゲノミクス PharmaMedica メディカルレビュー社 32, 15-20 (総頁数 135p) (2014. 8 月号).

東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任准教授  
研究者番号: 50376563

(3) 連携研究者

朝倉 富子 (ASAKURA, Tomiko)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任教授  
研究者番号: 20259013

三坂 巧 (MISAKA, Takumi)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授  
研究者番号: 40373196

石丸 喜朗 (ISHIMARU, Yoshiro)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任准教授  
研究者番号: 10451840

〔産業財産権〕

○取得状況 (計 1 件)

名称: 生体内の鉄量に関する状態を予測する方法

発明者: 亀井飛鳥、阿部啓子

権利者: (公財) 神奈川科学技術アカデミー

種類: 公開特許公報 (A)

番号: 特開 2015-228843 (P2015-228843A)

取得年月日: 平成 27 年 12 月 21 日 (2015. 12. 21)

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

[http://park.itc.u-](http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/tastescience/member.html)

[tokyo.ac.jp/tastescience/member.html](http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/tastescience/member.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿部 啓子 (ABE, Keiko)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任教授

研究者番号: 10151094

(2) 研究分担者

安岡 顕人 (Yasuoka, Akihito)

公益財団法人神奈川科学技術アカデミー・未病改善食品評価法開発プロジェクト・研究員

研究者番号: 10453028

井深 章子 (IBUKA, Akiko)

新潟薬科大学・応用生命科学部応用生命科学科・教授

研究者番号: 60301420

岡田 晋治 (OKADA, Shinji)