

平成 21年 5月 15日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007 ～ 2008

課題番号：19592149

研究課題名（和文） 脂肪酸の味覚と味覚修飾効果

研究課題名（英文） Taste of fatty acids and taste modulation by fatty acids

研究代表者

安松 啓子（YASUMATSU KEIKO）

九州大学・大学院歯学研究院・研究員

研究者番号：50380704

研究成果の概要：本研究課題において、脂肪酸の味覚および味覚修飾について味覚神経応答と組織学的検索を行った。脂肪酸による味覚神経応答と、苦味抑制が見られ KO マウス実験により脂肪酸受容・伝達に関わる分子が示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：生理学、神経科学、味覚、脂肪酸、受容

1. 研究開始当初の背景

正常な食調節を乱れさせる原因として、嗜好性の高い甘味や脂肪がある。甘味と違って脂肪そのものは明確な味を惹起しないにもかかわらず、食品に含まれているか否かで食欲への刺激効果はまったく異なっている。近年、脂肪酸受容体 GPR40、GPR120 やトランスポーター CD36 がげっ歯類の味蕾細胞に存在し、脂肪酸を受容している可能性が報告され、食物中の脂肪を検出するために味覚器が重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では、脂肪酸の味覚および味覚修飾について明らかにするため、脂肪酸単独刺激、味物質と混合した刺激を用いた生理学的機能解析を舌前方（鼓索神経）・後方（舌咽神経）の神経応答にて検討する。さらに、脂肪酸受容体、細胞内伝達関連分子 KO マウスを用い、脂肪酸応答や味覚修飾に関与する味細胞の機能分子を解析し、詳細な脂肪酸受容メカニズムを追求する。

3. 研究の方法

(1) マウス全神経線維束の各種味物質に対する応答と脂肪酸による味覚修飾効果の検索

実験動物：C57BL/6マウスを用いる。

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う。

応答記録方法：ペントバルビタール麻酔下(40-50mg/kg,i.p.)でマウスを仰臥位に実験装置に固定し、気管にカニューレを装着する。右側の内側翼突筋を除去後、舌神経から分岐し鼓室に入る直前で鼓索神経を切断および5mm程度周囲組織から剥離し、銀塩化銀電極にのせる。不関電極を近傍の組織に付着する。舌を囲むフローチャンバーに味刺激溶液を0.1ml/sの流速で還流させ、その全神経線維束応答を増幅器に入力し積分計(時定数1.0)に入力後コンピュータにて記録する。刺激時間は30 - 90秒とし、0.1M NH₄Clに対する応答の相対値として算出し、解析を行う。

味刺激：基準溶液 0.1M NH₄Cl、塩味 0.1 M NaCl、酸味 0.01M HCl、うま味 0.1M L-monopotassium glutamate (MPG)、苦味 0.02M QHCl, 20mM denatonium, 0.3 M MgSO₄, 0.5mM cycloheximide、甘味 0.01-1M sucrose, 0.5M L-prolineなどの多岐に渡る味物質に対する応答について検索する。

舌への脂肪酸塗布後の味応答の解析：上記味刺激に対する神経応答の記録の後、脂肪酸を舌に3分塗布後、再び上記の味刺激についての応答記録をおこなう。脂肪酸単独での刺激、脂肪酸と味物質混合溶液についての記録も行う。脂肪酸はリノール酸、リノレン酸、オレイン酸、DHAなど多価不飽和脂肪酸を中心に、1 - 10mM 溶液を用いる。

(2) Ggust-, TRPM5-, GPR40-, GPR120-KOマウス全神経線維束の各種味物質に対する応答と脂肪酸による味覚修飾効果の検索を上記同様の実験をKOマウスにおいても行う。

(3) 神経応答の結果から示唆された分子について味細胞での共発現の検索

C57BL/6 マウスを心臓還流にて脱血用PBS(0.9% NaCl/0.1M PB)、4%ホルマリン固定液(pH7.4)の順に流し、全身を固定する。舌を摘出後、前方の茸状乳頭部分と後方の有郭乳頭部分に切り分け、さらに4%ホルマリン固定液に3時間浸漬し、後固定をおこなう。20%ショ糖溶液に一晩浸漬後、OCT

コンパウンド中に包埋し凍結する。

それぞれの乳頭部分をクライオスタットにて10µmの凍結切片にし、スライドグラスに貼り付ける。10%ロバ血清を滴下し、一時間室温にてブロッキングをおこなった後、一次抗体を滴下し常法にて免疫反応をおこなう。用いる一次抗体は抗 T1Rs、抗 Trpm5、抗 GPR40, GPR120。一次抗体は二重染色のため、別の動物由来のものを用い、二次抗体はそれらと特異的に反応するものを用いる。共焦点顕微鏡にて観察し、写真としてコンピュータに取り込み、後の解析に用いる。

4. 研究成果

野生型マウスを用いて、脂肪酸単独刺激、味物質と混合した刺激を用い舌前方(鼓索神経)・後方(舌咽神経)の全神経線維束の応答記録を行ったところ、鼓索神経では、リノール酸、DHA、舌咽神経では、ラウリル酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、DHA、に対する有意な応答が見られた。G タンパク gust-KO マウスの脂肪酸応答では鼓索・舌咽両神経において、野生型マウスとの間に有意な差は見られなかったが、Trpm5-KO マウスについては、両神経において、野生型マウスより有意に小さい応答が見られた。脂肪酸受容体の KO マウスでは、野生型マウスより有意に小さい脂肪酸応答が見られた。組織学的検索において脂肪酸受容体と Trpm5 との共発現が示唆されたため、マウスの舌において受容される脂肪酸の情報は脂肪酸受容体および Trpm5 を介して伝達される味覚情報である可能性が示唆された。

味物質と脂肪酸の混合または脂肪酸塗布後の味応答において、野生型マウスでは、脂肪酸による有意な苦味抑制が見られた。脂肪酸の苦味抑制効果の強さは DHA>リノール酸>オレイン酸となり、DHA における苦味抑制の閾値は1mMであった。脂肪酸受容体 KO マウスでは、野生型マウス同様に脂肪酸による苦味抑制がみられたが、G タンパク gust-KO マウスでは鼓索・舌咽両神経において、脂肪酸による苦味抑制は見られなかった。このことから、脂肪酸による苦味抑制は、脂肪酸受容体を介さず、苦味受容体を介して起こっている可能性が示唆された。

以上の結果から、脂肪酸は味覚そのものとして、また、食品に含まれる苦味を抑制することで、それが含まれる食品に対する嗜好性を高めている可能性が本研究により示唆された。

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 11 件)

Yasumatsu K, Horio N, Murata Y, Shirotsaki S, Ohkuri T, Yoshida R, Ninomiya Y: Multiple receptors underlie glutamate taste responses in mice. *Am. J. Clin. Nutr.*, In press. 査読有

Ohkuri T, Yasumatsu K, Horio N, Jyotaki M, Margolskee RF, Ninomiya Y: Multiple sweet receptors and transduction pathways revealed in knockout mice by temperature dependence and gurmarin sensitivity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 296: R960-971, 2009, 査読有

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

Yasuo T, Kusuhara Y, Yasumatsu K, Ninomiya Y: Multiple receptor systems for glutamate detection in the taste organ. *Biol Pharm Bull*, 31: 1833-1837, 2008, 査読有

楠原庸子、安松啓子、大栗弾宏、堀尾奈央、前田勝正、二ノ宮裕三: マウス鼓索神経挫滅後の再生過程におけるうま味応答の回復。日本味と匂学会誌, 15: 289-292, 2008, 査読有

Shigemura N, Nakao K, Yasuo T, Murata Y, Yasumatsu K, Nakashima A, Katsukawa H, Sako N, Ninomiya Y: Gurmarin sensitivity of sweet taste responses is associated with co-expression patterns of T1r2, T1r3, and gustducin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 367: 356-363, 2008, 査読有

Shigemura N, Ohkuri T, Sadamitsu C, Yasumatsu K, Yoshida R, Beauchamp GK, Bachmanov AA, Ninomiya Y: Amiloride-sensitive NaCl taste responses are associated with genetic variation of ENaC alpha-subunit in mice. *Am. J Physiol. Regul. Integr.*

Comp. Physiol, 294: R66-R75, 2008, 査読有

Talavera K, Yasumatsu K, Yoshida R, Margolskee RF, Voets T, Ninomiya Y, Nilius B: The taste transduction channel TRPM5 is a locus for bitter-sweet taste interactions. *FASEB J*. 22: 1343-1355, 2007, 査読有

Hisatsune C, Yasumatsu K, Takahashi-Iwanaga H, Ogawa N, Kuroda Y, Yoshida R, Ninomiya Y, Mikoshiba K: Abnormal taste perception in mice lacking the type 3 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *J Biol Chem*, 282: 37225-37231, 2007, 査読有

Yasumatsu K, Kusuhara Y, Shigemura N, Ninomiya Y: Recovery of two independent sweet taste systems during regeneration of the mouse chorda tympani nerve after nerve crush. *Eur J Neurosci*, 26: 1521-1529, 2007, 査読有

安松啓子、大栗弾宏、吉田竜介、Damak S、Margolskee RF、二ノ宮裕三: 塩味、酸味、苦味物質混合によるマウス鼓索神経甘味応答の修飾。日本味と匂学会誌, 14: 387-390, 2007, 査読有

[学会発表](計 9 件)

安松啓子、楠原庸子、大栗弾宏、吉田竜介、二ノ宮裕三: マウス鼓索神経再生時におけるうま味応答の回復。第 50 回歯科基礎医学会, 2008 年 9 月 25 日, 東京

楠原庸子、安松啓子、大栗弾宏、堀尾奈央、前田勝正、二ノ宮裕三: マウス鼓索神経挫滅後の再生過程におけるうま味応答の回復。日本味と匂学会第 42 回大会, 2008 年 9 月 18 日, 富山

Yasumatsu K, Kusuhara Y, Ninomiya Y: Recovery of umami taste responses after crush of the mouse chorda tympani nerve. ISOT XV, 2008 年 7 月 23 日, サンフランシスコ・USA

安松啓子、吉田竜介、Margolskee RF、二ノ宮裕三: T1R3-KO, TRPM5-KO マウス単一鼓索神経記録によるうま味応答およびその細胞内伝達経路の解析。第 31 回日本神経科学大会, 2008 年 7 月 10 日,

東京

安松啓子、大栗弾宏、吉田竜介、Damak S、Margolskee RF、二ノ宮裕三: マウス鼓索神経シヨ糖応答における苦味、塩味、酸味物質混合の効果. 第58回西日本生理学会, 2007年10月20日, 福岡

Yasumatsu K, Yoshida R, Margolskee RF, Ninomiya Y: Modulations of sweet taste responses by salts, acids and bitter compounds in the mouse chorda tympani nerve. 第30回日本神経科学大会, 2007年9月12日, 横浜

安松啓子、大栗弾宏、吉田竜介、二ノ宮裕三: 塩味、酸味、苦味物質によるマウス鼓索神経甘味応答の修飾. 第49回歯科基礎医学会, 2007年8月30日, 札幌

安松啓子、大栗弾宏、吉田竜介、S. Damak、R.F. Margolskee、二ノ宮裕三: マウス鼓索神経における塩味、酸味、苦味物質混合シヨ糖応答の解析. 日本味と匂学会第41回大会, 2007年7月28日, 東京

Yasumatsu K, Yoshida R, Murata Y, Damak S, Margolskee RF, Ninomiya Y: Single fiber responses of the chorda tympani nerve to umami taste compounds in wild type, T1R3-KO and TRPM5-KO mice. AChemS XXIX, 2007年4月28日, フロリダ・USA

6 . 研究組織

(1)研究代表者

安松 啓子 (YASUMATSU KEIKO)
九州大学・大学院歯学研究院・研究員
研究者番号 : 50380704

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

()

研究者番号 :