

機関番号：17102
 研究種目：基盤研究（S）
 研究期間：2006～2010
 課題番号：18109013
 研究課題名（和文） 食の調節機構としての味覚の受容・認知機序の解明：味覚健康科学の創成
 研究課題名（英文） Taste Signaling Mechanisms for the Regulation of Food Intake: Approaches to Establishment for Taste Health Science
 研究代表者
 ニノ宮 裕三 (NINOMIYA YUZO)
 九州大学・大学院歯学研究院・教授
 研究者番号：50076048

研究成果の概要（和文）：

本研究は、味の受容・感受性調節とその食調節における役割を検索した。その結果、甘味が特定の味細胞で受容・細胞内伝達され、アデノシン3リン酸を介して、神経伝達されること、その感度は血中レプチン濃度と負の相関を示し、概日リズムが同調するが、肥満者はそれが消失すること、さらに、ヒト遺伝子多型解析からうま味受容体が複数存在することを示し、味の受容・情報伝達の新知見と、肥満との連関など味覚の新機能を見出した。

研究成果の概要（英文）：

Reception and modulation of taste signals and their roles in the regulation of food intake are investigated by examining taste cell, nerve and behavioral responses to various taste compounds. The results showed that sweet taste signal is initiated from a particular group of taste cells expressing T1r2/T1r3 sweet receptors and is transmitted to its corresponding group of nerve fibers through ATP release. Sweet taste sensitivity is inhibited by leptin, a satiety hormone, of which plasma level has a diurnal variation. Sweet taste thresholds also show diurnal variation that is parallel with that of plasma leptin levels. This synchronization, however, is not evident in obese subjects. Analyses on single nucleotide polymorphisms of umami receptor genes indicate existence of multiple receptors in umami perception in humans. These results provide new findings in the taste receptor and transduction mechanisms and new insights for potential roles of peripheral taste signal in the control for food intake, of which abnormality may possibly lead to the obesity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	33,800,000	10,140,000	43,940,000
2007年度	13,600,000	4,080,000	17,680,000
2008年度	12,900,000	3,870,000	16,770,000
2009年度	12,900,000	3,870,000	16,770,000
2010年度	13,300,000	3,990,000	17,290,000
総計	86,500,000	25,950,000	112,450,000

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、甘味受容体、遺伝子多型、肥満、ホルモン

1. 研究開始当初の背景

味覚は消化管の入り口で、食物情報をいち

早く中枢に伝え、消化吸收を円滑にし、エネルギーやミネラルバランスの維持に働く健康

維持に不可欠な感覚であると考えられている。しかし、生理的要求に伴う食嗜好や味覚感受性の変化についてはまだ不明であり、味覚情報の食調節における役割を明らかにする必要がある。代表者らは、摂食抑制に働くホルモン・レプチンが甘味を抑制することを発見し、外界のカロリーセンサーである甘味受容細胞は、体脂肪の増加により感受性を低下させ、甘味嗜好を調節するが、その調節系の破綻が肥満と関連する可能性が示唆されていた。

2. 研究の目的

そこで、本研究は、食嗜好に関する甘味・うま味・塩味に焦点を当て、(1)食嗜好に関する味細胞-味神経間の情報伝達とその情報ライン形成機構、(2)食嗜好変化に関する内因性物質(アンギオテンシン II)の味覚修飾作用とその機序、(3)ヒトの味覚感受性と血中レプチン濃度との関連、肥満・非肥満者の味覚受容・栄養吸収のレプチンによる修飾、(4)ヒト味覚関連遺伝子多型性と味覚感受性変異の関連、について研究し、味覚の健康への寄与について探求する。

3. 研究の方法

上記4課題について、(1)II型III型分子マーカーGFP発現味細胞の味応答と発現分子特性、さらにはATPによる味神経への情報伝達の検索、(2)アンギオテンシン IIの味覚修飾効果を受容体発現・味細胞/味神経/行動応答で検索、(3)肥満・非肥満者の血中レプチン濃度と味覚閾値の概日リズムの関連解析、(4)味覚関連遺伝子多型性と味覚閾値の関連、甘味うま味受容体遺伝子導入HEK293細胞による受容体再構築と、アミノ酸変異体の応答解析、を行った。

4. 研究成果

(1)単離味蕾を用いた単一味細胞の応答記録法を確立し、活動電位発生味細胞の応答記録し、味神経線維応答と比較したところ、両者の応答特性は大差がなく、味特異性が高く保たれており、特定の味応答細胞群から神経線維群に特異的な情報伝達がなされることが示唆された(Yoshida et al., J Neurophysiol, 2006)。味細胞II型III型に特異的に発現するGgustとGAD67の発現細胞がGFPで蛍光を発するように遺伝子改変を行ったトランスジェニックマウスを用い、蛍光発現細胞の応答を解析した。その結果、Ggust-GFP(II型)細胞は甘味(図1上赤)・うま味(黄)・苦味(青)のそれぞれに特異的に応答し、GAD67-GFP(III型)はすべてが酸味(図1下緑)に、一部他の電解質にも応答(青・黄)する特性が判明した(図1)(Yoshida et al., J Physiol(Lond), 2009; Yoshida et al., PNAS, 2010; Yoshida et al., Neuroscience, 2009)。

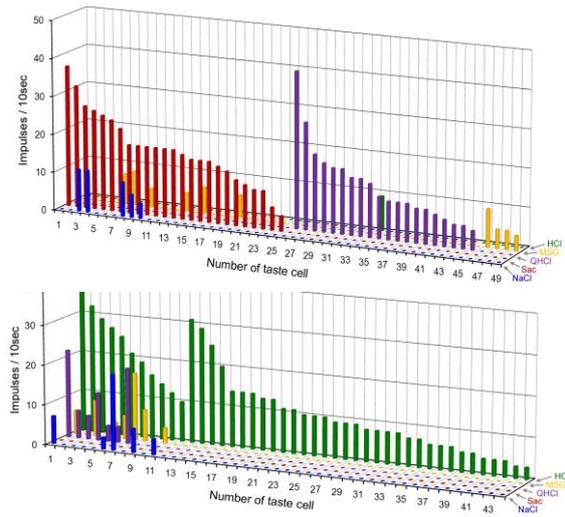


図1. 味細胞応答 (上: Ggust-GFP; 下: GAD67-GFP)

また、II型細胞からは甘味刺激に対して活動電位の頻度に依存したATP放出がおり、神経への伝達にATPが関与することが判明した(Murata et al., J Neurophysiol, 2009)。マウスの甘味抑制剤グルマリンに対する感受性を導入したマウスの甘味受容体発現細胞は非感受性のBALBマウスに比べ、Ggustの共発現率が高いこと、Ggust-KOマウスはグルマリン非感受性であることが判明し、グルマリン感受性経路にGgustが必須であることが示唆された。DNAマイクロアレイによる解析から、グルマリン非感受性の舌咽神経支配領域ではGα14の発現が著しく高いという結果を得ていたが、有郭乳頭(図2, CV)味細胞ではGα14が甘味受容体と共発現することが判明した(図2)。また、神経再生過程のGgustの発現は神経応答の回復に先立つことが分かり、味細胞の発現分子が神経誘導に関わっている可能性が示唆された。

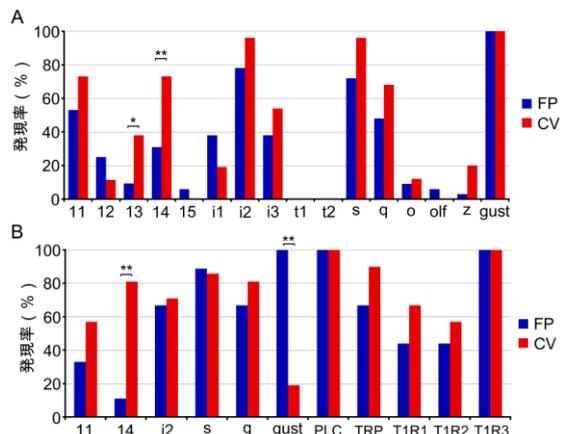


図2 Gα subunit の発現 (A:Ggust-GFP;B:T1r3-GFP 細胞)

(2)アンギオテンシン IIにより味神経の高濃度食塩に対する応答(アミロライド感受性成分)が抑制された。同様の結果が、行動応答

の解析においても確認された。免疫組織化学検索により、AT1 受容体発現細胞のほぼ半数が、1 型味細胞で ENaCs と共発現することが分かり、神経応答で得られた結果と一致した。また、アンジオテンシン II による塩味応答抑制と甘味応答の増大は、AT1 阻害剤で低下し、AT1 を介するものであることが判明した。

(3) 血中レプチン濃度は朝低く、夜高い概日リズムを持つ、非肥満者では甘味物質 (sucrose, glucose, saccharin) の認知閾値がそれに同調したリズムを持つが、他の基本味には見られないこと、食事制限による概日リズムの位相変化にも、同調することが分かった (図 3) (Nakamura et al., Diabetes, 2008)。

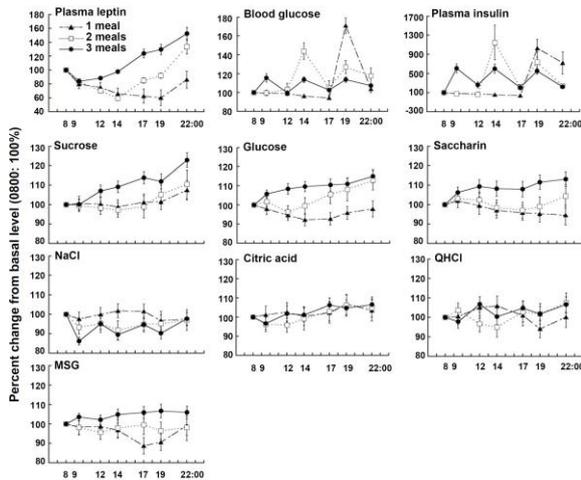


図 2. 味覚認知閾値とレプチンの概日リズム

一方、肥満者では甘味閾値の概日リズムは平坦化することが判明した。

また、食後の血中グルコース濃度と食前のレプチン濃度と甘味閾値が負の相関を示したことから、消化管における甘味受容体とレプチン受容体の発現、レプチンによる甘味感受性調節、それに引き続くグルコース吸収の変化をマウスで調べたところ、腸管内分泌細胞 STC-1 でレプチンによる甘味応答制御が、腸管吸収上皮でグルコース吸収の変化が明らかになった (Margolskee et al., PNAS, 2007)

(4) 味覚認知閾値と甘味・うま味受容体遺伝子 (T1r1-3) と TRPM5 イオンチャネルの遺伝子多型 (SNPs) について解析し、T1r1 と T1r3 にそれぞれ 1 箇所のアミノ酸変異がうま味 (グルタミン酸単独及びグルタミン酸とイノシン酸の混合液に対する応答) 認知閾値と相関し、T1r1 の変異 (A372T) は高感受性の、T1r3 側 (R757C) が低感受性の受容体形成に関与することが示唆された。また、その変異体を導入した HEK293 細胞の応答特性も同様な感受性変異を示した。興味深いことに、この高感受性変異には人種差がありアジア人に多い特徴があった (図 4) (Shigemura et al., PLoS ONE, 2009)。

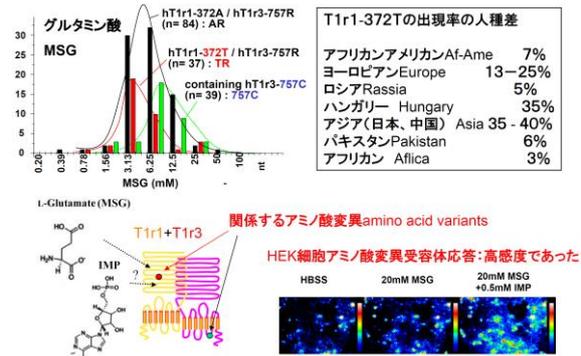


図 4 うま味感受性に関する遺伝子多型と人種差

HEK293 細胞に T1r2/T1r3 の遺伝子を導入し人工甘味受容細胞を構築し、サッカリンなど甘味刺激に対する応答と、その応答のギムネマ酸 (甘味抑制物質) による抑制効果、並びに、その結合部位を検索した。その結果、マウス・ヒト受容体キメラ体を用いた解析により、ギムネマ酸結合サイトが T1r3 の膜貫通領域であること (図 5A)、その抑制効果はガンマシクロデキストリンにより消去されること (図 5C)、点変異による解析で (図 5B) ギムネマ酸感受性を決定するアミノ酸変異が見出され、ヒト T1r3 膜貫通領域ドメインモデルでのドッキングシュミレーション解析では、そのドメイン内の上記点変異を含むバインディングポケットに収まることが予測された (図 5D)。

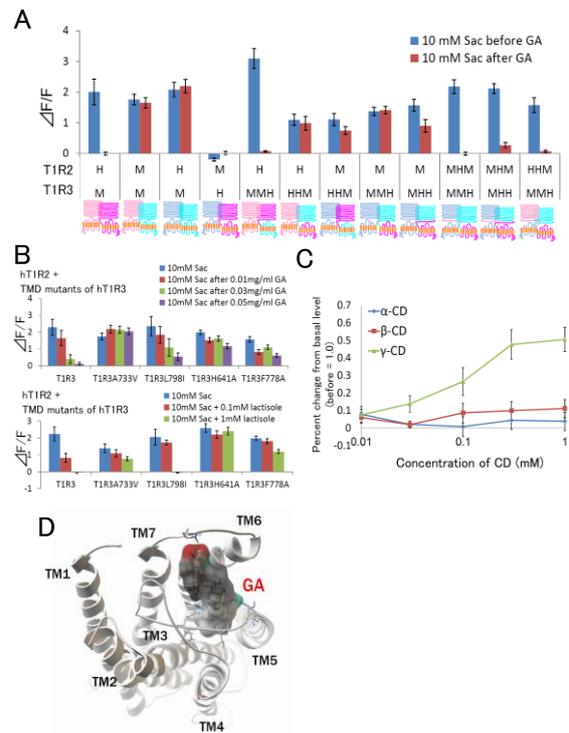


図 5 甘味受容体 T1r2/T1r3 におけるギムネマ酸の結合部位

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 28 件)

(以下の論文はすべて査読有)

- ① Plegems E., Iwatsuki K., Kokrashvili Z., Benard O., Ninomiya Y., Margolskee RF. REEP2 enhances sweet receptor function by recruitment to lipid rafts. *J Neurosci.* 30:(41)13774-13783, 2010
- ② Murata Y., Yasuo T., Yoshida R., Obata K., Yanagawa Y., Margolskee RF., Ninomiya Y. Action potential-enhanced ATP release from taste cells through hemichannels. *J Neurophysiol.* 104:(2)896-901, 2010
- ③ Jyotaki M., Shigemura N., Ninomiya Y. Modulation of sweet taste sensitivity by orexigenic and anorexigenic factors. *Endocr J.* 57 : (6) 467-475, 2010
- ④ Yoshida R., Ninomiya Y. New insights into the signal transmission from taste cells to gustatory nerve fibers. *Int Rev Cell Mol Biol* 279:101-134, 2010
- ⑤ 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.* 30 : (25)8376-8382, 2010
- ⑥ 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. USA* 107:(2)935-939, 2010
- ⑦ 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.* 10(1): 152, 2009
- ⑧ Arai T., Ohkuri T., Yasumatsu K., Kaga T., Ninomiya Y. The role of transient receptor potential vanilloid-1 on neural responses to acids by the chorda tympani, glosso—pharyngeal and superior laryngeal nerves in mice. *Neuroscience* 165:(4) 1476-1489, 2009
- ⑨ Shigemura N., Shirotsaki S., Sanematsu K., Yoshida R., Ninomiya Y. Genetic and molecular basis of individual differences in human umami taste perception. *PLoS ONE* 4:(8) e6717, 2009
- 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* 587: (18) 4425-4439, 2009
- ⑪ 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* 90: (3) 764S- 769S, 2009
- ⑫ 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* 90: (3) 747S-752S, 2009
- ⑬ Nakagawa Y., Nagasawa M., Yamada S., Hara A., Mogami H., Nikoleav 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* 4: (4) e5106, 2009
- ⑭ 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 gurmardin sensitivity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 296:(4)R960-971, 2009
- ⑮ 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
- ⑯ 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 NY Acad Sci.* 1170: 102-106, 2009
- ⑰ 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 NY Acad Sci.* 1170: 51-54, 2009
- ⑱ 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*, 57: (10)2661-2665, 2008
- ⑲ 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:(5)1343-1355, 2008
- ⑳ Yamaguchi N., Kukita T., Li Y-J., Kamio N., Fukumoto S., Nonaka K., Ninomiya Y., Hanazawa S., Yamashita Y. Adiponectin inhibits induction of TNF- α /RANKL-stimulated NFATc1 via the AMPK signaling. *FEBS Lett.* 582: (3)451-456, 2008
- ㉑ Shigemura N., Nakao K., Yasuo T., Murata Y., Yasumatsu K., Nakashima A., Katsukawa H., Sako N., Ninomiya Y. Gurmardin sensitivity of sweet taste responses is associated with co-expression patterns of T1r2, T1r3, and gustducin. *Biochem Biophys Res Commun.* 367: (2)356-363, 2008
- ㉒ 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: (1)R66-R75, 2008
- ㉓ Margolskee RF., Dyer J., Kokrashvili Z., Salmon KS., Ilegems E., Daly K., Maillet EL., Ninomiya Y., Mosinger B., Shirazi-Beechey SP. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na⁺-glucose cotransporter 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: (38)15075-15080, 2007
- ㉔ 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-triphosphate receptor. *J. Biol. Chem* 282: 37225-37231, 2007
- ㉕ 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: (6)1521-1529, 2007
- ㉖ Talavera K., Ninomiya Y., Winkel C., Voets T., Nilius B. Influence of temperature on taste perception. *Cell Mol Life Sci.* 64:(4) 377-381, 2007
- ㉗ Yoshida R., Shigemura N., Sanematsu K., Yasumatsu K., Ishizuka S., Ninomiya Y. Taste responsiveness of fungiform taste cells with action potentials. *J Neurophysiol* 96: (6) 3088-3095, 2006
- ㉘ Ohkuri T., Yasumatsu K., Shigemura N., Yoshida R., Ninomiya Y. Amiloride inhibition on NaCl responses of the chorda tympani nerve in two 129 substrains of mice, 129P3/J and 129X1/SvJ. *Chem. Senses* 31: (6) 565-572, 2006

[学会発表] (計 4件)

- ① Sanematsu K., Ninomiya Y. Molecular mechanisms between sweet receptors and taste modifiers. PACIFICHEM2010, Honolulu, Hawaii, USA 2010.12.15-20 (招待講演)
- ② Ninomiya Y. The taste organ is a target for orexigenic and anorexic mediators, 20th European Chemoreception Research Organization(ECRO) Avignon, France 2010.9.14-19 (招待講演)
- ③ Ninomiya Y. Reciprocal modulation of sweet taste by leptin and endocannabinoids 30th Blankenese Conference Humburg-Blankenese, Germany 2010.5.8-12 (招待講演)
- ④ Ninomiya Y. Modulation of sweet taste responses by orexigenic and anorexigenic factors, 32th AchemS, St.Pete Beach, Florida, USA, 2010.4.21-25 (特別講演)

[図書] (計 2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
- 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

[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

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

(2) 研究分担者

重村 憲徳 (SHIGEMURA NORIATSU)
九州大学・大学院歯学研究院・准教授
研究者番号：40336079
(2006~2007)
吉田 竜介 (YOSHIDA RYUSUKE)
九州大学・大学院歯学研究院・助教
研究者番号：60380705
實松 敬介 (SANEMATSU KEISUKE)
九州大学・大学院歯学研究院・助教
研究者番号：70567502

(3) 連携研究者

重村 憲徳 (SHIGEMURA NORIATSU)
九州大学・大学院歯学研究院・准教授
研究者番号：40336079
(2008~2009)