

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658115

研究課題名(和文) 生理状態による味覚感受性変化の分子機構の解明 なぜ、空腹だとおいしく感じるのか？

研究課題名(英文) Research on the molecular mechanisms changing taste sensitivity by internal physiological status.

研究代表者

岡田 晋治 (Okada, Shinji)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：50376563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：われわれの味覚は摂食・栄養状態によって変化する。この生理現象については、近年のいくつかの研究報告によって、摂食行動の制御に働くホルモン・低分子のいくつかは、味受容細胞に直接作用して、味覚感受性を修飾・変化させていることが明らかになってきたが、不詳な点が多く残っている。本研究は、行動生理学的解析によって、絶食時と自由摂食時では一部の味物質に対する感受性が変化することを示唆した。また、この両者では、味蕾細胞における遺伝子発現プロファイルに差があることを示唆した。以上のことから、食餌摂取の有無が味受容器の遺伝子変化を介して、味覚感受性を変化させる機構が存在することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Internal physiological status such as eating and nutritional status influences taste sensation. It has revealed about this phenomenon that several hormones and small molecules affect the peripheral taste receptor cells directly and modify the sensitivity to tastants. However, many parts of this mechanism remain unknown. Behavioral physiological analyses suggested the differences in taste sensitivity to one tastant between eating and non-eating animals in this study. This study also suggested the differences in gene expression profile of taste bud cells between two eating status. These results suggested that the mechanisms which modify the taste sensitivity by changing the gene expression exist in the peripheral taste receptor cells.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：味覚 栄養 食 トランスクリプトーム

1. 研究開始当初の背景

味覚、嗅覚を含め、感覚は体調(生理状態)の影響を受ける。とくに、空腹時には食べ物をおいしく感じたり、食べ物の匂いに敏感になったりするという経験は誰でもあるだろう。この感覚の変化は動物が食物を獲得・摂取し、生体を維持するために重要であると考えられている。しかし、この現象を引き起こす分子機構は最近まで全く不明であった。

最近、摂食・栄養状態の変化に伴い消化管や脂肪組織から分泌され、視床下部の摂食中枢や満腹中枢などに作用することで摂食行動の制御に働くホルモン・低分子のいくつか、味受容細胞や匂い受容細胞にも作用して、味覚感受性や嗅覚感受性を修飾・変化させることが示された(Kawai K. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2000; Yoshida R. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2010; Root C.M. *et al.*, *Cell*, 2011)。しかし、これらの研究で示された他に摂食・栄養状態のシグナルとして味覚感受性を変化させる因子があるのか、味受容細胞内でどのような分子機構で味覚受容システムが修飾され、味覚感受性が変化するのか、は明らかではない。

2. 研究の目的

本申請研究ではトランスクリプトーム解析を基盤とした一連の解析によって、摂食・栄養状態のシグナル因子が味受容細胞に作用して味覚感受性を変化させる分子機構を解明することを最終目的とした。具体的には以下の実現を目指した。

- (1) 味覚感受性の変化を引き起こす摂食・栄養状態のシグナル因子の同定
- (2) 味覚感受性を変化させる分子機構に関わる可能性がある遺伝子発現の同定

3. 研究の方法

(1) 味覚感受性変化の解析

C57BL/6J マウスおよび db/db マウスを1週間の予備飼育ののち2群に分け、一方は自由摂食群、他方は24時間絶食群に設定した。

本飼育5日目にリッキング試験を行った。24時間絶食群はリッキング試験の20時間前に給餌を終了した。

予備飼育中および本飼育中にリッキング試験のトレーニングを行った。

リッキング試験では、5秒間の間に給水瓶で提示した味溶液(味物質+水)を舐める回数を計測した。

舐める回数を各味溶液の嗜好性・感受性の指標とし、味物質ごとに濃度応答曲線を作成し、感受性の変化をしらべた。

(2) トランスクリプトーム解析

C57BL/6J マウスを1週間の予備飼育ののち2群に分け、一方は自由摂食群、他方は20時間絶食群に設定した。

20時間絶食群は解剖の20時間前に給餌を終了した。

各マウスの舌を摘出し、有郭乳頭周辺の皮下にコラゲナーゼ溶液を注入した。その後、有郭乳頭上皮を剥離し、余分な上皮組織を除去した。

上記の有郭乳頭上皮から total RNA を抽出した。

total RNA から target cRNA を調製し、Affymetrix 社 Mouse 430 2.0 GeneChip に供した。

取得データを正規化し、解析した。

4. 研究成果

まず、絶食・摂食による味覚感受性変化の解析を行った。リッキング法(Brief Access Test)によって味覚感受性変化を解析する条件の検討を行った。絶食と摂食という2つの状態間でリッキング法によって評価する方法は前例がなく、様々な条件を検討し、条件を決定した。決定した条件を用いて基本味を呈する溶液に対する嗜好性変化を解析したところ、一部の味溶液に対する嗜好性が変化することを示唆する結果を得た。一方、味受容細胞に作用し、その細胞応答強度を修飾すると報告されているレプチンの味覚感受性変化への寄与を明らかにするために、レプチン受容体が機能欠損している db/db マウスについても絶食・摂食状態で味覚感受性変化の解析を試みた。しかし、多食、多飲である db/db マウスでは、制限給水などリッキング法の最適条件を確立することが出来ず、各個体によって最大リック数が大きくバラつき、その味覚感受性変化を明らかにすることが出来なかった。リッキング法などの行動生理学的解析は困難であり、他の解析手法が必要であることが示された。

味覚感受性変化に相関する遺伝子発現変化を明らかにするため、絶食時と摂食時における味蕾細胞の遺伝子発現プロファイルの比較を行った。マウスを2群に分け、自由摂食群と20時間絶食群とを設定した。各群のマウスから有郭乳頭上皮の採取を行った。自由摂食群に比べ、20時間絶食群の有郭乳頭上皮は剥離が困難であった。これについては絶食による影響、もしくは、絶食によって摂水量が減ったことによる影響が考えられた。各有郭乳頭上皮から total RNA を抽出し、マイクロアレイ解析に供した。その結果、自由摂食群に対して20時間絶食群では、味覚受容体遺伝子群が発現増加している傾向が観察された。また一方で、細胞増殖や細胞分化、細胞骨格形成に関わる遺伝子群の発現は低下している傾向が観察された。このことから、絶食時には味覚受容体遺伝子の発現増加によって、味覚感受性を増強するという機構の存在が示唆された。そして、絶食状態にある、つまり、栄養素の供給が絶たれている状態にあるときには、味蕾細胞(上皮細胞)の増殖や分化、形成が抑制されることが示唆された。

今後は発現量変化の可能性が提示された候補遺伝子について、他の手法によって発現

量変化を検証することが必要だと考えている。また、味蕾は性質の異なる複数の細胞種で構成されているため、どの細胞種において発現量変化が起きているのか、組織化学的手法で検証することも必要である。

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8件)

- Toda, Y., Nakagita, T., Hayakawa, T., Okada, S., Narukawa, M., Imai, H., Ishimaru, Y., and Misaka, T., Two distinct determinants of ligand specificity in T1R1/T1R3 (the umami taste receptor)., *J. Biol. Chem.* 288, 36863-36877, 2013. DOI:10.1074/jbc.M113.494443. 査読有
- Kamei, A., Watanabe, Y., Kondo, K., Okada, S., Shinozaki, F., Ishijima, T., Nakai, Y., Kondo, T., Arai, S., and Abe, K., Influence of a short-term iron-deficient diet on hepatic gene expression profiles in rats., *PLoS ONE* 8, e65732, 2013. DOI:10.1371/journal.pone.0065732. 査読有
- Maeda, N., Kawakami, S., Ohmoto, M., Coutre, J. L., Vinyes-Pares, G., Arigoni, F., Okada, S., Abe, K., Aizawa, H., and Misaka, T., Differential Expression Analysis throughout the Weaning Period in the Mouse Cerebral Cortex., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 431, 437-443, 2013. DOI:10.1016/j.bbrc.2012.12.150. 査読有
- Ieki, T., Okada, S., Aihara, Y., Ohmoto, M., Abe, K., Yasuoka, A., and Misaka, T., Transgenic labeling of higher-order neuronal circuits linked to phospholipase C-beta2-expressing taste bud cells in medaka fish., *J. Comp. Neurol.* 521, 1781-1802, 2013. DOI:10.1002/cne.23256. 査読有
- Kobayashi, S., Katsuyama, S., Wagatsuma, T., Okada, S., and Tanabe, S., Identification of a new IgE-binding epitope of peanut oleosin that cross-reacts with buckwheat., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 76, 1182-1188, 2012. DOI:10.1271/bbb.120063. 査読有
- 岡田 晋治, 亜鉛欠乏と味覚障害・食行動異常, *生物の科学 遺伝* 66, 643-648, 2012.
<http://ci.nii.ac.jp/naid/40019473291>
査読無
- Okada, S., Abuyama, M., Yamamoto, R.,

Kondo, T., Narukawa, M., and Misaka, T., Dietary zinc status reversibly alters both the feeding behaviors of the rats and gene expression patterns in diencephalon., *Biofactors* 38, 203-218, 2012. DOI:10.1002/biof.1007. 査読有

[学会発表](計8件)

- 戸田 安香、中北 智哉、岡田 晋治、成川 真隆、石丸 喜朗、三坂 巧、旨味受容体 T1R1/T1R3 の L-Glu 活性を決定する因子の同定, *日本農芸化学会 2014 年度大会*, 2014/3/27-30、明治大学生田キャンパス (神奈川)
- 吉本 靖東、岡田 晋治、山上 圭吾、三坂 巧、マウス有郭乳頭における味蕾マーカーとしての Ulex europaeus agglutinin-1 の有用性, *日本農芸化学会 2014 年度大会*, 2014/3/27-30、明治大学生田キャンパス (神奈川)
- 池永 直弥、吉田 晃子、家木 誉史、岡田 晋治、三坂 巧、メダカ味覚受容体 T1R1 の転写制御配列の取得, *日本農芸化学会 2014 年度大会*, 2014/3/27-30、明治大学生田キャンパス (神奈川)
- 家木 誉史、池永 直弥、吉田 晃子、岡田 晋治、三坂 巧、メダカにおける味覚関連遺伝子群の発現様式, *日本農芸化学会 2014 年度大会*, 2014/3/27-30、明治大学生田キャンパス (神奈川)
- 山本 遼、岡田 晋治、三坂 巧、短期亜鉛欠乏におけるラットの味嗜好性変化の解析, *日本農芸化学会 2013 年度大会*, 2013/3/24-28、東北大学川内北キャンパス (宮城)
- 幸田 理恵、成川 真隆、山本 遼、岡田 晋治、三坂 巧、食餌性鉄欠乏ラットにおける味嗜好性の変化, *日本農芸化学会 2013 年度大会*, 2013/3/24-28、東北大学川内北キャンパス (宮城)
- Abe, K., Okada, S. and Misaka, T., Taste system in fish., *XVI International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT 2012)*, Jun 23-27, 2012, Stockholm, Sweden.
- Toda, Y., Okada, S., and Misaka, T., Establishment of a new cell-based assay to measure the sweetness intensities of ligands including fluorescent substances., *XVI International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT 2012)*, Jun 23-27, 2012, Stockholm, Sweden.

[図書](計2件)

- 岡田 晋治ら執筆, 新・櫻井 総合食品事典(櫻井芳人監修、荒井綜一・倉田忠男・田島真編集) 同文書院、2012. 1183 ページ
- 岡田 晋治ら, 食物と栄養学基礎シリー

ズ 7 基礎栄養学 (吉田勉監修、佐藤隆一郎・加藤久典編) 学文社、2012. 160 ページ

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

小型魚類メダカをモデルとした味の情報
伝達・処理に関わる神経回路の標識

<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2013/20130415-1.html>

旨味受容体 T1R1/T1R3 のアミノ酸選択性を決定する分子メカニズムの同定

<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2013/20130415-1.html>

東京大学大学院 農学生命科学研究科
ILSI Japan 寄付講座「機能性食品ゲノミクス」

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/ilsi/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡田 晋治 (Shinji Okada)

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

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし