

味覚研究の最前線—塩味受容を中心に

朝倉 富子

東京大学大学院農学生命科学研究科 特任教授

「食べること」は生命の維持に必要不可欠であり、すべての生物は、成長や生命の維持に必要な成分を“食物”から摂取する。食物は、消化・吸収の過程を経て、生命の維持や運動に必要なエネルギーの産出、また体成分へと転換され利用される。消化と吸収は食物摂取による生体反応のもっとも重要なシステムであり、消化と吸収が行われるのは消化管である。食べ物は先ず口腔内で咀嚼によって細かく砕かれ、唾液と混合して食塊を形成する。一部の成分は唾液中の酵素によって消化を受けるが、食塊は咽頭を通過して食道へ送られ、次の消化器官である胃へと到達して、本格的な消化・吸収が始まる。口腔は摂取した食べ物を適正な大きさと硬さにする物理的な消化だけでなく、その食物を体内へ送り込むべきか否かを決定する選抜機能をもつ。私達が食べ物を摂取しようとする場合、まず形、色などを見、匂いを嗅ぎ、異常がないかどうかを確認する。異常がないと判断すると次にその食物を口に含む。口腔内では、味を感じて咀嚼・嚥下に続く消化行動に移すべきかどうかを判断する。味覚は、食物の安全性を評価する重要な生体センサーと言える(図1)。



図1 食べ物の認知

1. 味覚受容器

味の受容は舌上皮に存在する味蕾と呼ばれる組織中にある細胞で行われる。味蕾は舌上皮の有郭乳頭、葉状乳頭、茸状乳頭に多く存在している。有郭乳頭は、舌の奥の部分に、葉状乳頭は舌の奥の淵の部分に存在し、これらの乳頭には多くの味蕾が集中して存在している。茸状乳頭は舌の先端3分の2の部分に散らばって存在し、それぞれの味蕾は約100個の細胞から構成されている。味蕾はヒトでは、胎生8週からその原基が見られると言われ、生後から増え続け20歳くらいで最大になり、その後減少する。

舌の後方にある有郭乳頭では約2,000個、側面の葉状乳頭では約1,300個、舌全面にある茸状乳頭では約1,600個の味蕾が存在する。舌上の味細胞は10日ごとにリニューアルされる比較的新陳代謝の高い組織といえる。味に対する感度を示す閾値は加齢とともに上昇し、感度は低下する傾向にある(図2)。

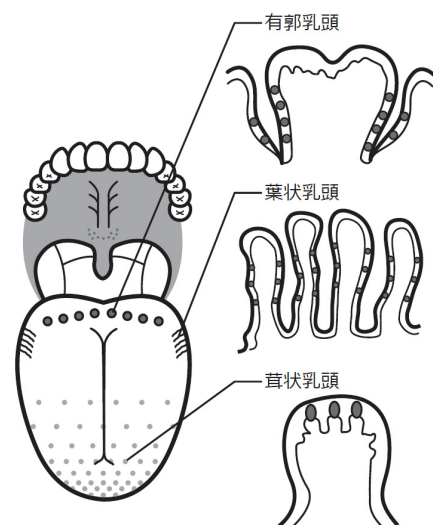


図2 味覚受容器

2. 味の伝わる仕組み

味蕾で感知された味のシグナルは、舌の前半部にある鼓索神経、あるいは、舌の奥にある舌咽神経を伝わって延髄孤束核に伝えられる。孤束核では、神経の乗り換えが起こり、味覚情報は視床の味覚野へ投射され、大脳皮質味覚野では、味の種類、強さが識別される。さらに前頭連合野においては、大脳皮質味覚野すなわち一次感覚野でキャッチしたシグナルとことば、甘い、酸っぱいなどの言語と結びついた知覚、認識となる。視床下部には摂食中枢、満腹中枢があり、これらが刺激されると食行動が引き起こされる(図3)。

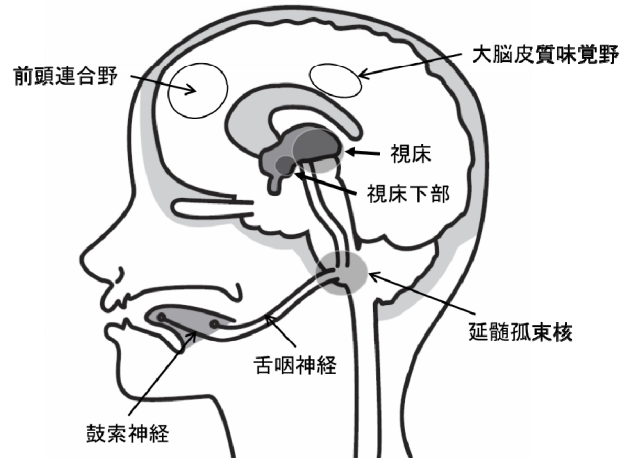


図3 味の伝わる仕組み

3. 5 基本味の生理的な意義

このように味は食物摂取において特に重要な役割を果たす。味は5つの基本味(甘, 旨, 苦, 酸, 塩)から成る。基本味とは、①他の基本味とは異なることが明らかであること、②普遍的な味であること、③他の基本味と組み合わせるとその味を作ることが出来ないこと、④他の味とは独立した味であることが神経生理学的に示されること定義されている。辛み、渋味などは、”味“といわれるが、味覚器を介した応答ではないことから、基本味には分類されていない。しかし、えぐ味、収斂味などとともに広義の味として認識されている。味覚は、食物摂取判断のシグナルとなることから、各々の基本味は表に示す様に、栄養的・生理的意義を持つと考えられている(表1)。

表1 5 基本味と生理的機能の関係

甘味	エネルギー源(グルコース)	嗜好
旨味	タンパク質(グルタミン酸)	嗜好
酸味	腐敗	忌避
苦味	毒物	忌避
塩味	ミネラル	低濃度 嗜好 高濃度 忌避

4. 5 基本味とその受容体

味を受容する受容体(レセプター)はこの10数年の間に次々に発見された^{1~5)}。旨味物質であるグルタミン酸をはじめとして、Lアミノ酸の一部はGタンパク質共役型受容体(GPCR)に属するT1R1、T1R3のヘテロダイマーが、受容することが明らかになった。

甘味を呈する物質には、ショ糖やマルトース、人工甘味料のサッカリン、アスパルテム、甘味タンパク質のソーマチン、ブラゼイン、モネリンといった分子サイズ、構造などの異なる多様な物質が存在するが、T1R2-T1R3のヘテロダイマーのみが、甘味を受容する。多様な構造をもつ甘味物質をたった一つのレセプターが受容するという事実は大変興味深く、今後このレセプターの構造が解明されることによって、甘味認知の分子レベルでの仕

組みが解明されると思われる。苦味を感じる物質も多種多様な物質が含まれ、これらはT1Rと同じくGPCRであるT2Rという分子群によって受容される。ヒトでは25種類のT2R分子が知られている。個々の苦味物質がどのT2R分子によって受容されるかの対応は、一部の分子しかまだ、明らかになっていない。酸味レセプターの候補分子としては非選択性陽イオンチャネル(TRPチャネル)ファミリーに属するPKD2L1、PKD1L3が報告された⁶⁾。このチャネルは、クエン酸、酢酸、リンゴ酸、塩酸を受容し、旨味、甘味、苦味受容体とは異なる味細胞に発現していることがわかっているが、これらの酸を投与し、除去した時にチャネルが開くオフ応答を示すことから、PKD2L1、PKD1L3以外の酸味受容体が存在すると考えられている。塩の受容体は長い間明らかにされなかったが、近年ナトリウムチャネルに属するENaCが、マウスの塩味受容体として報告された⁷⁾。ENaCは上皮性ナトリウムチャネルの一種で、尿細管腔の原尿中のナトリウムを細胞内に流入させる働きを持つ。舌上皮にも存在し、ENaCを欠失したマウスでは、低濃度の塩に対する感受

性が低下した。しかし、塩への感受性をすべて失うことはなく、ENaC 以外にも塩を受容する分子の存在が示唆されている(図 4)。

5. 旨味・甘味・苦味のシグナル伝達

旨・甘・苦味の受容体はいずれも7膜貫通型のGPCR である。これらの受容体を介したシグナル伝達については、図 5 のように、説明されている。すなわち、各々のGPCR のシグナルを受ける G タンパク質が、PLCβ2 を活性化し、2 次メッセンジャーである IP₃、DAG を産出する。

IP₃(イノシトール3リン酸)はERにあるIP₃レセプター(IP₃R3)に作用し、ERからCa²⁺を放出する。Ca²⁺は、TRPM5 というカルシウムチャネルを活性化し、Na⁺が細胞内に流入する。このとき、膜電位の変化が生じ、それによって味覚のシグナル伝達の二次メッセンジャーであるATPが電位依存性イオンチャネル CALHM1 を介して放出されることが最近発見された⁸⁾。これにより、GPCR を介した旨味、甘味、苦味の末梢におけるシグナル伝達メカニズムはほぼ解明された。

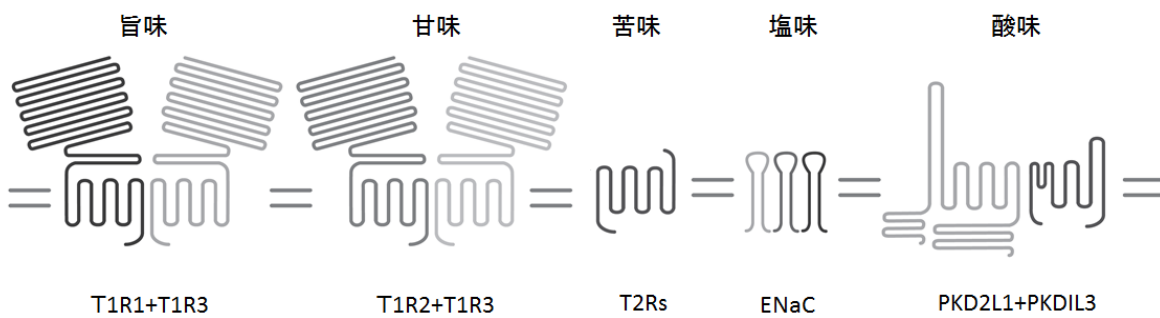
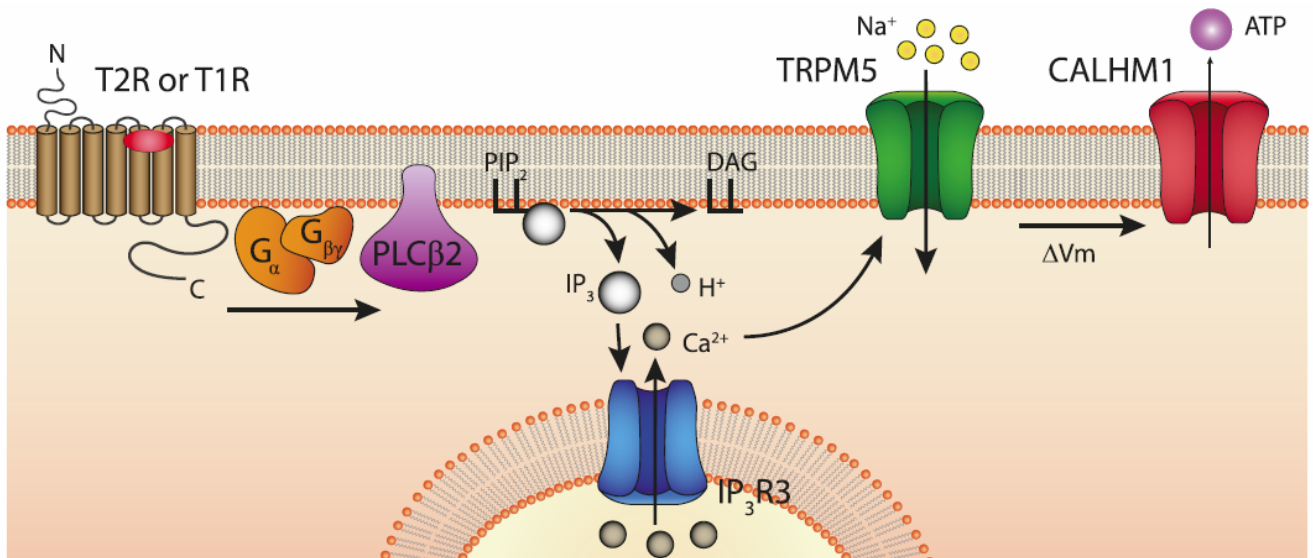


図 4 味覚受容体



Neuron 81, 2014 より引用

図 5 甘味、旨味、苦味のシグナル伝達

6. 減塩へ向けて

これまで、塩の健康への影響について様々な研究がなされてきた。塩の過剰摂取は高血圧、心血管疾患、胃がん等の疾病リスクを増大させることが報告されている。

現代では多くの人々が国などで定められている基準を上回る量の塩を摂取している。日本における現在の1日食塩摂取量は、男性 11.6 g、女性 9.6 g で、目標値の男性 8.0 g 未満、女性 7.0 g 未満には届かず、減塩を行うことが必要とされている。しかし、塩を減らした食品は呈味性が著しく低下するため、減らすだけの減塩は、実現が困難である。そこで、食品の呈味性を損なうことなく、減塩を行う手段が必要とされている。

塩味を呈する物質は NaCl が唯一の物質である。KCl、NH₄Cl のように陽イオンが異なる Cl 塩も NaCl とは異なる味を呈する。陰イオンの異なる Na₂SO₄、CH₃COONa など、Na 塩も NaCl とは全く異なる味を呈する。最も NaCl に近い味質を示すのは KCl であるが、えぐ味があり、完全な代替品とはならない。そこで、塩味を増強する物質の作出が望まれる。ひとつの試みとして、塩味受容

体候補分子 ENaC を用いた塩味増強物質探索について紹介する。本研究では、塩味増強物質探索の為に、上皮性ナトリウムチャネル、ENaC を利用することにした。ENaC は塩味受容体の一つとして考えられており、これを活性化する物質は、塩味増強作用を示すという仮説のもと、より効果的な塩味増強物質獲得を目的とした ENaC 活性化剤の探索を行った。

6. 1 培養細胞発現系を用いたハイスループットなスクリーニング

ヒト ENaC は α 、 β 、 γ の3つのサブユニットで構成されるヘテロ3量体である。 α 、 β 、 γ hENaC をヒト腎由来の HEK293T 細胞に発現させた。細胞の培養液中には 130 mM の NaCl が含まれており、ここにリガンド溶液を添加する。Na⁺の流入速度に変化が生じれば、細胞の膜電位が変化する。膜電位感受性色素を導入しておき、この電位変化を蛍光マイクロプレートリーダーで記録する。この値をもとに、ENaC 活性化剤をスクリーニングする。培養細胞の系は、一度に約 96 サンプルを処理することが出来、測定時間も 100 秒と短く、ハイスループットなスクリーニングが可能である。図 6 に反応スキームを示す。

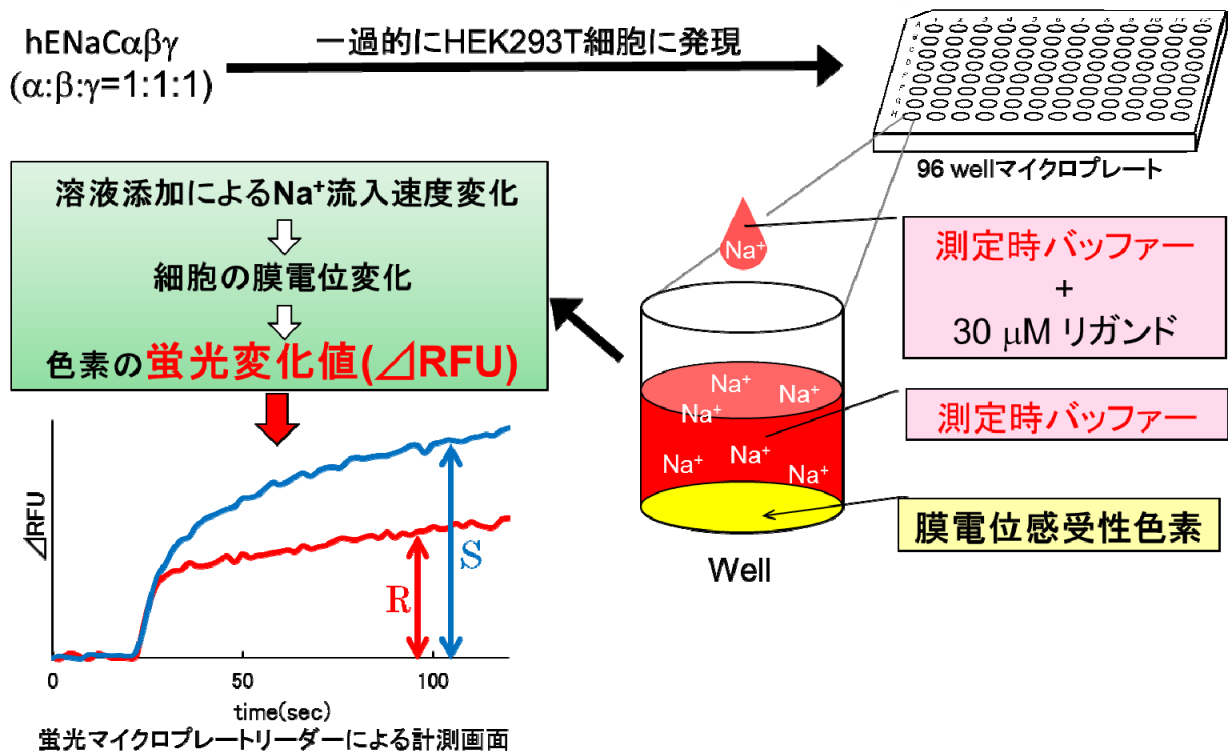


図 6 培養細胞を用いた一次スクリーニング

6.2 カエルの卵母細胞を用いた電気生理学的手法による二次スクリーニング

培養細胞を用いた一次選抜を通過したサンプルは、カエルの卵母細胞を用いた電気生理学的手法によって、二次スクリーニングを行った。電気生理学的手法は、細胞膜の電位の変化を直接測定するもので、膜電位色素を用いて測定した場合に比べて、疑陽性の確率が低い。実験方法を図7に示す。

ヒト ENaC の α 、 β 、 γ サブユニットの cRNA を 1:1:1 の比率で、マイクロインジェクターを使用してアフリカツメガエル卵母細胞に、注入し、hENaC を発現させる。ナトリウムイオンを含む緩衝液で満たされたチャンバー内で卵母細胞に 2 本の微小電極を挿し、ここにリガンド溶液を添加する。hENaC を介したナトリウムイオンの流入速度に変化が生じると、膜電流が変化する。この膜電流変化を二電極膜電位固定法により記録する。測定の際には

ENaC 阻害剤であるアミロライド $1 \mu\text{M}$ の添加を同時に行い、それに対する応答を基準としてリガンドの活性有無の判定を行うことで、偽陽性を取り除いた。

6.3 化合物ライブラリーを用いたスクリーニング

ENaC を活性化する物質のスクリーニングには、東京大学創薬イノベーションセンターの保有する約 21 万の化合物のライブラリーを用いた。21 万化合物のうち、構造の類似度が低い化合物を集めたコアライブラリー(約 1 万化合物)中 3,367 化合物を一次スクリーニング系に供したところ、全体の 12% である 390 化合物が、活性化剤候補として選出された。これらをさらに二次スクリーニング系で検討したところ、4 個の hENaC 活性化剤が見いだされた。

本スクリーニング系を用いて、さらに強い活性化能を示す分子を抽出し、安全性を確認したのち、塩味増強効果を検証する。

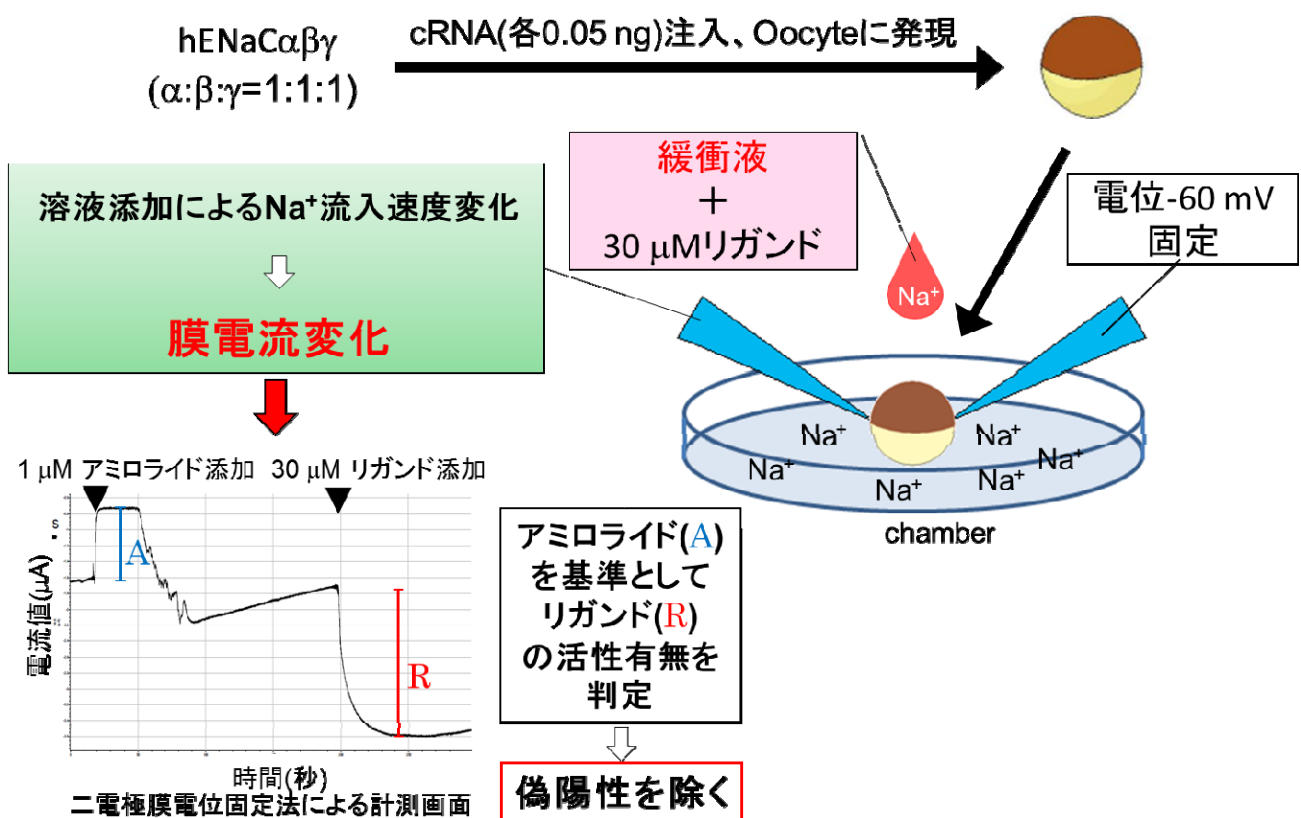


図7 二電極膜電位固定法による二次スクリーニング

文 献

- 1) E.R.Liman *et al.*, *Neuron*, 81, 984 (2014) review.
- 2) G. Nelson *et al.*, *Cell*, 106, 381 (2001).
- 3) G. Nelson *et al.*, *Nature*, 416,199 (2002).
- 4) E. Adler *et al.*, *Cell*. 100, 693 (2000).
- 5) J. Chandrashekar *et al.*, *Cell*, 100, 703 (2000).
- 6) Y. Ishimaru *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 12569 (2006).
- 7) J. Chandrashekar *et al.*, *Nature*, 464, 297 (2010).
- 8) A. Taruno *et al.*, *Nature*, 495, 223, (2013).

講演者略歴

- 1982年 お茶の水女子大学大学院家政学研究科食物学専攻修士課程 修了
- 1996年 農学博士(東京大学)
- 2005年 跡見学園女子大学短期大学部家政学科 教授
- 2006年 跡見学園女子大学マネジメント学部生活環境

マネジメント学科 教授

- 2007年 東京大学大学院農学生命科学研究科 特任准教授
- 2012年 東京大学大学院農学生命科学研究科 特任教授

著 書

1. 朝倉富子, 「不思議な味物質」食と味覚, p.16-26. 建帛社, 2008年4月出版
2. 中島健一郎, 古泉文子, 朝倉富子, 三坂巧, 「味覚修飾蛋白質ネオクリンの活性化機構と新規甘味蛋白質の開発」蛋白質核酸酵素, 54, 843-848. (2009).
3. 朝倉富子, 「味覚受容体」医と食, 日本抗加齢協会誌, p.282-283. 2011年12月出版
4. 朝倉富子, 「味の持続性を計測する」遺伝, p.661-667. 2012年11月号
5. 朝倉富子, 石丸喜朗, 「食品成分間相互作用と味覚修飾」月刊バイオインダストリー, p.3-8. 2014年8月号