

## 塩による甘味増強作用の検証

近藤 高史

近畿大学農学部食品栄養学科

### 概要

お汁粉やスイカに少量の食塩を添加すると甘味が増加する。この現象は、これまで甘味と塩味の「対比効果」である(おそらく脳内で生じる味覚の統合作用による)と教科書などに記載されてきた。しかし、ごく最近、マウスを用いた実験により、舌の甘味細胞に発現する  $\text{Na}^+$ -グルコース共輸送体(SGLT)が関与することが報告された。SGLT は  $\text{Na}^+$ 存在下でグルコースを共輸送するグルコース輸送体であり、1型から6型まで存在する。小腸では1型(SGLT1)がグルコース吸収を担っている。

そこで、本研究ではヒトにおいてもマウスと同様に SGLT(とくに SGLT1)の関与で説明できるか検証した。

15名の健康な女子大学生(21~22歳)を官能評価に使用した。試験したすべての天然糖(グルコース、ガラクトース、スクロース、フルクトース)および人工甘味料(スクラロース)の甘味強度は、0.1%(17 mM) NaCl 添加により有意に増加した。しかし、この増加はグルコースで最も大きく観察された。NaCl の効果は 0.1%で最大に達し、濃度依存性が認められた。この増加は、フロリジン(SGLT1-6 の非選択的阻害剤)およびミザグリフロジン(SGLT1 選択的阻害剤)によって同程度まで減少した。NaCl 以外の Na 塩/Cl 塩の甘味増加作用が弱かったことから、甘味増加には  $\text{Na}^+$ と  $\text{Cl}^-$ の両方が必要であることが示唆された。なお、口中にスクロースを3分間保持してもグルコースは生成されなかった。これらの結果は、ヒトにおける甘味増加が、SGLT/SGLT1 だけでなく、他の未知なメカニズムも関与することを示唆する。

### 1. 研究目的

ひとつまみの塩をお汁粉やスイカに添加すると甘味がより強く感じられることが広く知られている。ヒトの官能評価試験において、スクロース、フルクトース、グルコースなどの甘味は、少量の塩化ナトリウム(NaCl)添加により増加する<sup>1,2)</sup>。NaCl は塩味物質であり糖は甘味物質であることから、NaCl 添加による甘味の増加は、塩味と甘味の「対比効果」である(すなわち、おそらく脳内で生じる味覚の統合作用による)と説明されてきた。しかしながら、科学的根拠に乏しく、分子メカニズムは不明であった。

ところが、ごく最近、マウスを用いた実験により、NaCl の甘味増加作用に  $\text{Na}^+$ -グルコース共輸送体(SGLT)が関与することが報告された<sup>3)</sup>。マウスの鼓索神経(味神経のひとつ)の味応答を記録した実験において、舌へのスクロース

／グルコース刺激に対する神経応答は 10 mM(0.058%) NaCl 添加により増加し、この増加は SGLT 阻害剤のフロリジンで抑制される。一方、人工甘味料やポリコースでは、このような NaCl 添加による有意な応答増加が認められない。

そこで、ヒトにおける甘味増加作用も SGLT で説明できるかについて、関心が集まった。しかし、現在のところ、一致した結果は得られていない。吉田&實松(2020)<sup>4)</sup>は、スクロースやグルコースの甘味認知閾値(甘味を呈すると認識できる最小濃度)だけでなく、人工甘味料アスパルテームの甘味認知閾値も NaCl 添加により有意に低下すると報告した。一方、Breslin ら(2021)<sup>5)</sup>は、検知閾値(水と異なることが認識できる最小濃度)の変化を調べる実験により、グルコースの検知閾値は NaCl 添加によって有意に低下するが、人工甘味料スクラロースの検知閾値は逆に約 2

倍増加すると報告した。さらに、グルコースと NaCl の混合溶液にフロリジンを追加すると、グルコース単独よりも検知閾値が著しく増加した(すなわち、NaCl 作用の抑制だけでは説明ができない)。一方、NaCl を添加したフルクトース/スクラロースの検知閾値は、フロリジン添加によって影響されない。このように人工甘味料に対する NaCl の作用においても研究者間によって結果が異なり、フロリジンの抑制作用も解釈が難しい状況である。さらに、SGLT が関与するとしても、SGLT には 1 型から 6 型までの 6 種類が存在する<sup>6)</sup>。ヒトの口腔上皮には、SGLT1、GLUT1~3 の発現が認められるが<sup>7)</sup>、ヒト味細胞に発現するか否かについては不明である。SGLT のサブクラス選択的阻害剤を用いた実験も検討されていない。

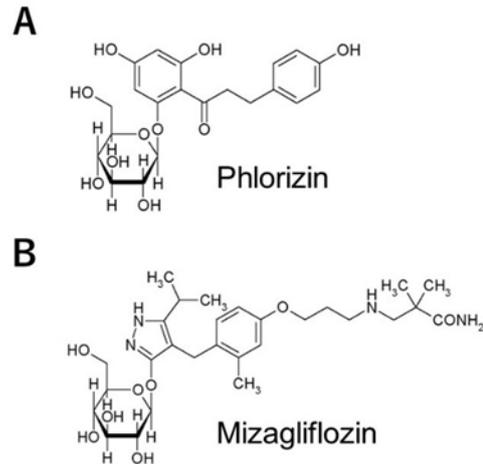
そこで、本研究では、NaCl 添加による甘味増加作用について、ヒトでもマウスと同様に、SGLT、とくに SGLT1 の関与で説明できるか官能評価により調べた。実験方法として、検知閾値や認知閾値を調べるのではなく、喫食濃度の甘味物質を用い、甘味強度の変化を調べることを目的とした。

## 2. 研究方法

### 2.1 被験者

近畿大学農学部食品栄養学科の健康な 4 年生 15 名(21~22 歳;女性)を被験者として用いた。本研究は、近畿大学農学部生命倫理委員会の承認を得て実施した(承認番号 2021-13A)。被験者に、あらかじめ研究の目的を説明し、研究参加に関して書面で同意書を提出することにより、インフォームド・コンセントを得た。

実験開始前に、被験者に五基味物質(NaCl、スクロース、MSG、酒石酸、カフェイン)あるいはその他の呈味物質(グルコース、ヒスチジン、乳酸、クエン酸、キニーネ塩酸塩、KCl、CaCl<sub>2</sub>、MgCl<sub>2</sub>など)を用いてさまざまな味覚トレーニングを行った。具体的には、検知閾値・認知閾値の測定、2点識別法、3点識別法、順位法、ステアケース法<sup>5,8)</sup>、generalized Labeled Magnitude Scale (gLMS)<sup>9)</sup>、Visual Analogue Scale (VAS)<sup>10,11)</sup>などの実験手法に加えて、味覚相互作用、味覚変調作用などの実験を経験することにより、さまざまな評価に対応できる能力を身につけさせた。さらに、これらの過程で被験者に味覚障害・味覚異常がないことを確認した。



**Fig. 1** Chemical structures of phlorizin (A, a broad inhibitor for all types of SGLT) and mizagliflozin (B, a selective inhibitor for SGLT1).

### 2.2 試薬

D(+)-グルコース、D(-)-フルクトース、D(+)-ガラクトース、スクロース、塩化ナトリウム(NaCl)、炭酸水素ナトリウム(NaHCO<sub>3</sub>)、塩化マグネシウム六水和物(MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O)、塩化カルシウム二水和物(CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O)、塩化カリウム(KCl)(いずれも富士フィルム和光純薬)、硫酸ナトリウム(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;ナカライテスク)、およびスクラロース(東京化成工業)を用いた。また、SGLT 阻害剤としてフロリジン水和物(東京化成工業)、SGLT1 選択的阻害剤<sup>12)</sup>としてミザグリフロジン(KWA 0711, Selleck)を用いた(**Fig. 1**)。

### 2.3 溶液調製

テストする甘味溶液の濃度ごとに、ベースとなる濃度に 1.15 倍ずつ乗じた 3 種類の標準液(S0, S1, S2)を調製した。たとえば、15%グルコース(S0)に対する甘味増加作用を調べる実験では、S0 の濃度に 1.15 倍ずつ乗じた 17.25%(S1)と 19.84%(S2)のグルコース標準液を調製し、それぞれの甘味スコアを 0, 1, 2 と定義した。また、テスト溶液として、S0 溶液に各種塩を添加したものを用いた。添加した塩の種類は NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, KCl のいずれかであり、濃度は 0.025%, 0.05%, 0.1%, 0.2%のいずれかを使用した。阻害剤を使用する実験では、1 mM フロリジンまたは 0.2 mM ミザグリフロジンを添加した。すべての試薬は国産蒸留水(共栄製薬株式会社)を用いて溶解した。

## 2. 4 官能評価試験

すべての溶液をPET製プラスチックカップ(60 ml; サンナップ)に入れ、被験者に室温で提供した。被験者には実験開始前の少なくとも90分間、水を除く飲食を控えるよう指示した。

テスト溶液の甘味強度は、標準液 S0~S2 との間で比較し、同じ甘味強度を示す標準液を選択することにより採点(スコア化)した。塩単独刺激によって生じる感覚は、糖単独刺激によって生じる甘味に比べて時間的に速く生じるため、甘味増加の評価は、テスト溶液を口に入れてから約2秒経過した以降の甘味強度に注目し評価するよう被験者に指示した。それぞれの溶液は、約5秒間味わった後に飲み込んだ(飲み込み法を使用)。しかし薬物(SGLT/SGLT1 阻害剤)を用いる実験では、溶液を飲み込まずに回収容器に吐き出した(吐き出し法)。ひとつのテストが終わった後は、口を水で2回以上ゆすいだ。テストとテストの間隔は、甘味の余韻が消えるまで少なくとも1分間以上空けた。もし余韻が消えない場合は、さらに口を水でゆすぎ、甘味の余韻が消えるまで間隔を空けるよう指示した。

## 2. 5 唾液中のグルコース分析

口の中に入れたスクロースが唾液等により分解されてグルコース(およびフルクトース)を生成するか調べるため、グルコースの定量分析を行った。被験者の口を水でよくゆすいだ後に、10gの4%スクロース溶液または蒸留水を口内に入れて3分間保持し、PETカップに吐き出し回収した。半数の被験者は、スクロースを先にテストしてから水をテストし、残りの半数は逆の順序でテストした。この溶液に蒸留水を加えて100gに整えた後に、食品及び一般分析用試薬キット(E8140A, J.K.インターナショナル, 東京)および紫外可視分光光度計(UV-1280, 島津製作所, 京都)を用いて、グルコース分析を行った。

## 2. 6 統計処理

得られた結果を、平均値±標準偏差で示した。スコア増加の有意差(スコア0との有意差)は、one sample *t*-testを用いて検定した。薬物作用の有意差は、paired *t*-testを用いて検定した。単純主効果(濃度、添加物)の有意差は、反復測定一元配置または二元配置分散分析を用いて検定した。各濃度におけるスコアの事後比較(多重比較)は、Holm-Sidak testを用いて検定した。 $P < .05$ を有意差ありと判定した。

## 3. 研究結果

### 3. 1 0.1% NaCl 添加による甘味の増加

さまざまな甘味物質(糖および人工甘味料)に0.1% NaClを添加することによる甘味増加作用の大きさを、定量的に測定した。

はじめに、グルコース、フルクトース、ガラクトース、スクラロースについて10%スクロースと等価甘味度を示す濃度を調べたところ、それぞれ15%、9%、16%、0.02%であった。そこで、これらの濃度に一定濃度(0.1%)のNaClを添加し、甘味スコアの増加を調べた。その結果、グルコースに対するスコアの増加(mean ± SD)が $1.40 \pm 0.34$ と最も大きく、次いでスクロースが $1.07 \pm 0.50$ 、ガラクトースが $0.90 \pm 0.47$ 、フルクトースが $0.67 \pm 0.45$ 、スクラロースが $0.67 \pm 0.59$ となった(Fig. 2)。これらのスコア平均値を甘味物質(濃度)の増加比に換算すると、グルコースが1.22倍、スクロースが1.16倍、ガラクトースが1.13倍、フルクトースが1.10倍、スクラロースが1.10倍であった。すなわち、22%、16%、13%、10%、および10%の甘味物質濃度の増加に相当することが示された。

One sample *t*-testの結果、いずれの甘味溶液のスコアも、0に比べて有意に増加した( $P < .01$  または  $P < .001$ )。さらに、一元配置分散分析の結果、甘味物質(主要因)に有意差が認められた( $F(4,56)=8.915, P < .001$ )。事後比較の結果、グルコースとスクロースの間に有意差はなかったが、グルコースに比べてガラクトース、フルクトース、およびスクラロースのスコアは有意に小さかった( $P < 0.01$  または  $P < .001$ )。

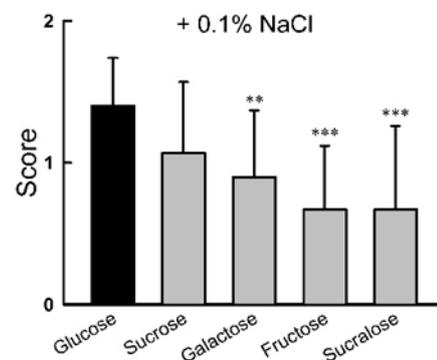


Fig. 2 Enhancement of sweetness for natural and artificial sweeteners by adding 0.1% NaCl in healthy university students (n = 15).

\*\* $P < .01$  and \*\*\* $P < .001$ ; significant difference between glucose.

### 3. 2 甘味増加作用におけるグルコース濃度依存性

NaCl の作用が、甘味物質濃度に依存するか調べるため、4 濃度 (3.75%, 7.5%, 15%, 30%) のグルコースを用いて、0.1% NaCl 添加の作用を調べた。その結果、15%グルコースを用いたときの甘味増加作用が最も大きかった (Fig. 3)。一元配置分散分析の結果、グルコース濃度 (主要因) に有意差が認められた ( $F(3,42) = 5.339, P < .01$ )。事後比較の結果、3.75%および 30%グルコースは 15%グルコースに対する増加よりも有意に小さかった ( $P < .05$  または  $P < .01$ )。なお、7.5%グルコースは、15%グルコースと有意差がなかった。

### 3. 3 甘味増加作用における NaCl 濃度依存性

NaCl の甘味増加作用に、NaCl 濃度依存性があるか調べた。15%グルコースおよび等価甘味の 9%フルクトースを用いて、4 濃度 (0.025%, 0.05%, 0.1%, 0.2%; すなわち 4.3, 8.6, 17, 34 mM) の NaCl を添加し、甘味増加作用を調べた。その結果、0.1% (17 mM) 以下の NaCl では、濃度が増加するに伴いグルコースおよびフルクトースの甘味強度が増加し、0.1% NaCl 添加で最大に達した (甘味スコアはそれぞれ  $1.23 \pm 0.26$  および  $0.87 \pm 0.52$ ; Fig. 4)。興味深いことに、0.2% (34 mM) 添加では、0.1%添加と同程度あるいは効果が低下する傾向が認められた (それぞれ  $1.07 \pm 0.46$  および  $0.60 \pm 0.60$ )。二元配置分散分析の結果、主要因である NaCl 濃度 ( $F(3,42) = 31.961, P < .001$ )、糖の種類 ( $F(1,14) = 6.431, P < .05$ )、および交互作用 ( $F(3,42) = 5.091, P < .01$ ) に有意差が認められた。事後比較の結果、0.1%および 0.2% NaCl 添加による甘味増加作用は、グルコースの方がフルクトースよりも有意に大きかった ( $P < .01$  および  $P < .001$ )。なお、0.025% (4.3 mM) NaCl は甘味増加作用を示さず、0.05% (8.6 mM) NaCl はグルコースとフルクトースの甘味を同程度に増加させた (それぞれ  $0.57 \pm 0.46$  および  $0.57 \pm 0.42$ )。

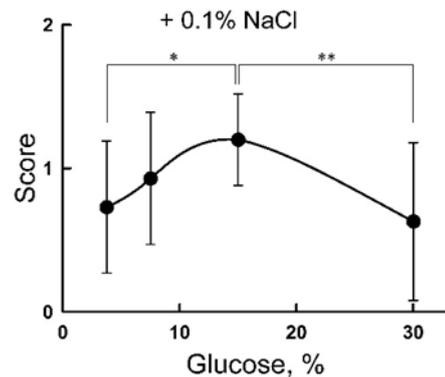


Fig. 3 Glucose concentration-dependent enhancement of sweetness by adding 0.1% NaCl. \*,  $P < .05$  and \*\*\* $P < .01$ ; significant difference between glucose concentrations.

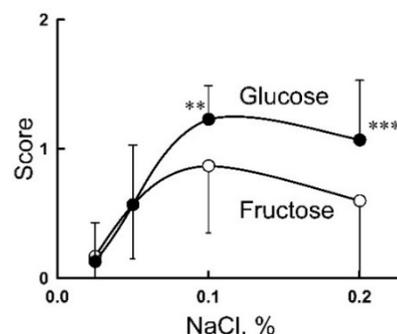
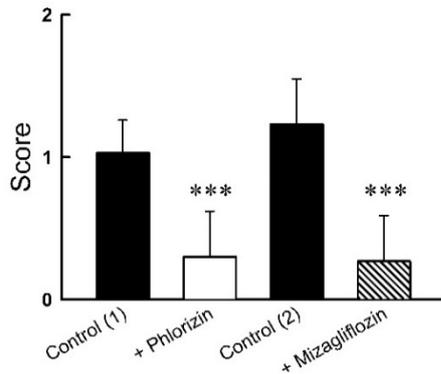


Fig. 4 NaCl concentration-dependent enhancement of sweetness for 15% glucose and 9% fructose. \*\*,  $P < .01$  and \*\*\* $P < .001$ ; significant difference between glucose and fructose.

### 3. 4 SGLT/SGLT1 阻害剤による抑制

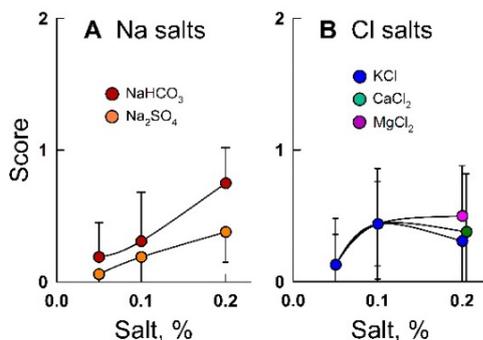
SGLT には 1 型から 6 型まで存在し、消化管粘膜には 1 型 (SGLT1) が発現してグルコース吸収を担っていることが知られている。しかし、ヒトの味細胞に SGLT が発現し機能しているかについては、まだわかっていない。そこで、すべての型の SGLT を非選択的に抑制するフロリジンと SGLT1 のみ選択的に抑制するミザグリフロジンを用いて、NaCl の甘味増加作用に対する影響を調べた。甘味物質として 15%グルコースを用いた。その結果、フロリジンおよびミザグリフロジンは、有意に NaCl の甘味増加作用を抑制した ( $P < .001$ ; Fig. 5)。なお、フロリジンおよびミザグリフロジンを添加しても、NaCl の甘味増加作用 (それぞれ  $0.30 \pm 0.32$  および  $0.27 \pm 0.32$ ;  $P < .01$  および  $P < .05$ ) は完全には抑制されなかった。また、フロリジンとミザグリフロジンの間に有意差はなかった。



**Fig. 5** Suppression of NaCl-induced enhancement of sweetness for glucose by phlorizin and mizagliflozin. \*\*\* $P < .001$ ; significant difference between control and inhibitor.

### 3. 5 NaCl 以外の塩による甘味増加作用

NaCl の作用が,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , あるいはその両方によるのか調べるため, NaCl 以外の塩を用いて, 15%グルコースの甘味に対する増加作用を調べた。その結果, いずれの塩も, 0.05%では有意なスコア増加を示さず, 0.1%以上の濃度でわずかなスコア増加を示した (Fig. 6)。Na 塩である  $\text{NaHCO}_3$  および  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  の添加は, 濃度依存的な甘味増加作用を示した ( $P < .001$  および  $P < .01$ )。しかし, それらの塩の作用は, NaCl に比べて小さかった。一方で, Cl 塩である  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ , および  $\text{MgCl}_2$  は, 0.05%では作用がなく, 0.1%で最大作用を示したが, それでも平均スコアが約 0.5 までしか到達しなかった。これら 5 種塩について二元配置分散分析を行った結果, 濃度のみに有意差が認められ ( $F(2,28) = 28.841, P < .001$ ), 塩の種類には有意差が認められなかった。



**Fig. 6** Salt concentration-dependent enhancement of sweetness for 15% glucose. A, Na salts; B, Cl salts.

### 3. 6 口中におけるスクロース分解の可能性

口中のスクロースが  $\alpha$ -グルコシダーゼなどによる酵素の作用を受けて分解し, グルコース (およびフルクトース) を生成する可能性について調べた。その結果, 水を口に含んだ時のグルコース濃度は  $12 \pm 20 \text{ mg/L}$ , スクロースを口に含んだ時のグルコース濃度は  $23 \pm 11 \text{ mg/L}$  であり, 両者の間に有意差は認められなかった。

### 4. 考察

マウス実験により, NaCl の甘味増加作用に SGLT が関与することが報告された。もしその結論がヒトにも当てはまるのであれば, NaCl 添加による甘味増加は, SGLT によって輸送されるグルコースとガラクトースで生じるが, SGLT によって輸送されない甘味物質 (フルクトース, 人工甘味料) では生じないことが予想される。さらには, SGLT 阻害剤添加で NaCl の作用が打ち消されるはずである。そこで, 本研究で調べた結果, NaCl 添加による甘味増加は, グルコース/ガラクトースだけでなく, フルクトースと人工甘味料スクラロースでも生じることが明らかになった。しかし, 増加の大きさには甘味物質による差が認められた。すなわち, グルコースとスクロースの間に有意差は認められなかったが, グルコースの甘味増加に比べてガラクトース, フルクトース, およびスクラロースの甘味増加は有意に小さかった (平均値の大きさで比較すると, グルコース > スクロース > ガラクトース > フルクトース = スクラロース)。さらに, NaCl 添加によるグルコースの甘味増加は, フロリジン (SGLT1-6 の非選択的阻害剤) とミザグリフロジン (SGLT1 選択的阻害剤) の添加により部分的かつ有意に同程度まで抑制された。これらの結果は, 少なくともヒトでは SGLT を介するメカニズムに加えて, SGLT 以外の甘味増加メカニズムも介在することを示唆する。フロリジンとミザグリフロジンの抑制作用が同程度であったことから, ヒトの甘味知覚における主要な SGLT のサブタイプは SGLT1 の可能性が高いと考えられる。

また, Na 塩および Cl 塩は, NaCl に比べて甘味増加作用が弱かったこと, および NaCl 以外の塩の作用に有意差がなかったことから, NaCl による甘味増加には  $\text{Na}^+$  だけでなく  $\text{Cl}^-$  も関与することが示唆された。

#### 4. 1 T1R 非依存性の甘味検出経路

哺乳類の味覚細胞における主要な甘味センサーは、甘味受容体 T1R2/T1R3 ヘテロ二量体である。T1R2/T1R3 は、天然糖、人工甘味料、甘味アミノ酸を含むすべての甘味化合物の受容体として機能する。しかし、味細胞には T1R 非依存性の甘味受容機構も存在することが知られている。たとえば、マウス実験において、グルコースに対する嗜好性行動および鼓索神経応答<sup>13)</sup>、スクロースの味覚識別能力<sup>14)</sup>、さらには口腔内グルコース刺激による頭相インスリン放出<sup>15, 16)</sup> は、いずれも T1R3 ノックアウトで有意な影響を受けない。T1R3 を発現するマウス味細胞は、SGLT1、複数のグルコーストランスポーター (GLUT2, GLUT4, GLUT8, GLUT9)、および ATP 依存性 K (K<sub>ATP</sub>) チャンネルのサブユニット (KIR6.2 および SUR1) を発現する<sup>17, 18)</sup>。したがって、複数の T1R 非依存性甘味増加経路が関与する可能性がある。マウス甘味細胞には、少なくとも T1R 発現細胞、SGLT 発現細胞、および両者を発現する細胞の3種類が存在する<sup>3, 19)</sup>。NaCl による甘味増加は SGLT 阻害剤によって大きく抑制されることから<sup>3, 5)</sup>、SGLT の寄与が最も大きい可能性が考えられる。

#### 4. 2 SGLT1 の関与の可能性

グルコースに対する T1R 非依存性応答の最有力候補は SGLT1 である。ヒトの SGLT1 は 14 個の膜貫通ヘリックスを持つ 72 kDa タンパク質で、2 個の Na<sup>+</sup> と 1 個のグルコース分子を細胞内に共輸送する<sup>20)</sup>。SGLT1 は、マウスおよびラットの味細胞 (T1R3 発現細胞) とヒトの口腔内上皮組織に発現する<sup>7, 17, 18, 21)</sup>。しかし、これまでの研究で用いられてきた SGLT 阻害剤は、6 種類の SGLT を非選択的に抑制するフロリジンのみであった。したがって、フロリジンを使った実験では、SGLT1 の関与に言及することはできない。そこで、その問題点を補うため、本研究ではフロリジンに加えてミザグリフロジン (SGLT1 選択的阻害剤) の作用も調べた。その結果、両阻害剤の作用は同程度であることがわかった (両者間に有意差なし)。したがって、NaCl 添加による甘味増加には、SGLT1 の関与が高いことが示唆された。

なお、SGLT を介したグルコース (および Na<sup>+</sup>) の細胞内流入によって、なぜ甘味応答が増加するかはまだ不明であるが、いくつかの可能性が考えられる。

1 つめは、Na<sup>+</sup> の細胞内流入に伴って生じる脱分極が細胞興奮性を高める可能性である。In vitro 実験において、SGLT1 は細胞外グルコースの上昇を介して発生する活動電位の増加に不可欠であり、関連して生じる内向き Na<sup>+</sup> 電流が、細胞膜電位を脱分極する<sup>22)</sup>。Na<sup>+</sup> 流入は、電位感受性カルシウムチャンネルを開き、GLP-1 含有分泌小胞の開口分泌を生じる<sup>23)</sup>。

2 つめの可能性として、細胞内に流入したグルコースが代謝を受け、細胞内 ATP 濃度が上昇することにより、ATP で抑制される K チャンネル (K<sub>ATP</sub>) が閉じる可能性があげられる。K<sub>ATP</sub> が閉じることによって、細胞膜の脱分極が生じる<sup>24)</sup>。K<sub>ATP</sub> チャンネルの閉鎖は、ラット小腸における本格的なグルコース誘発反応を刺激するために必要であることが報告されている<sup>25)</sup>。一方、K<sub>ATP</sub> チャンネルはほとんど閉じているという報告もある<sup>26)</sup>。さらには、ATP を生じない非代謝性グルコースアナログの刺激によって、小腸 L 細胞から GLP-1 放出が生じる<sup>23, 27)</sup>。したがって、甘味細胞の興奮に K<sub>ATP</sub> チャンネルの閉鎖がどの程度寄与するかは不明である。

#### 4. 3 スクロースの甘味増加メカニズム

スクロースは SGLT の基質ではないが、ヒトにおいて、少量の NaCl 添加によりスクロースの甘味が増加する<sup>1, 2)</sup>。マウスにおいても、10 mM NaCl 添加により、舌へのスクロース刺激に対する鼓索神経応答が増加する<sup>3)</sup>。マウス味細胞は、複数の  $\alpha$ -グリコシダーゼ (アミラーゼや中性  $\alpha$  グリコシダーゼ C など) や、二糖加水分解酵素 (マルターゼ-グルコアミラーゼやスクラーゼ-イソマルターゼ、ラクターゼ、トレハラーゼ) を発現する<sup>28)</sup>。二糖類分解酵素の阻害剤をマウス舌に作用させると、二糖類刺激に対する味神経反応が特異的に減少する。しかし、単糖類やノンカロリー甘味料に対する味神経反応は変化しない<sup>28)</sup>。したがって、スクロースの甘味が増加するメカニズムの説明として、味細胞先端膜に発現する酵素によりスクロースが分解されてグルコースを生成するためであると考えられている。本研究では、口中に入れたスクロースが、唾液や口腔粘膜に存在する酵素によって分解される可能性について検証したが、グルコース濃度は増加しなかった。しかし、味細胞局所でグルコースが生成し、直ちに吸収されるのであれば、本方法で検証することはできない。Sukumaran ら (2016)<sup>28)</sup> の説がヒトにも当てはまるかを検証することは容易ではない。

#### 4. 4 Na イオンおよび Cl イオンの関与

NaCl 添加による甘味増加に、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>、あるいはその両方が関与するか調べるために、各種 Na 塩と Cl 塩の作用を比較した。その結果、いずれの塩もわずかな増加を示したが、いずれも NaCl の作用には及ばなかった。この結果は、NaCl の作用に Na<sup>+</sup>と Cl<sup>-</sup>の両方の存在が重要であることを示唆する。吉田と實松 (2020)<sup>4)</sup> は、Na<sup>+</sup>が T1R2/T1R3 に作用し、甘味物質に対する応答を増大させる可能性について報告した。一方、Atsumi ら (2023)<sup>29)</sup> は、メダカ T1R2a/T1R3 受容体の T1R3 に Cl イオンの特異的結合結合部位が存在すること、およびマウス鼓索神経応答が舌への Cl イオン刺激によって弱いながら有意に増加することを報告した。これらの結果は、Na<sup>+</sup>と Cl<sup>-</sup>の作用点が甘味受容体上にあることを示しており、人工甘味料やフルクトースの甘味が NaCl によって増加する現象を説明できる可能性がある。ただし、本研究において、Na 塩単独や Cl 塩単独の作用は弱かったことから、Na<sup>+</sup>と Cl<sup>-</sup>が協調して甘味受容体に作用する可能性も考えられる。

なお、興味深いことに、ヒトにおいて、喫食濃度の甘味物質に対する NaCl の甘味増加作用は、10%から 22%の濃度増加に相当する小さな変化であることがわかった。うま味の場合は、2.3 倍 (= 130%) の濃度増加に相当するうま味増加を生じる<sup>30)</sup>。さらに、うま味増加は、主に Na<sup>+</sup>によって生じる (Cl<sup>-</sup>の関与は弱い) という点も、甘味増加と異なる。いろいろな味細胞において、NaCl がどのような役割を果たしているか、今後詳細に解明する必要があると考える。

#### 5. 今後の課題

NaCl による甘味増加作用は、うま味増加作用に比べて非常に小さい。したがって、甘味増加作用について詳細な検討を進めるためには、感度の高いヒト評価方法を開発する必要がある。また、ヒトやマウス以外の動物を用いて、NaCl 添加による甘味増加作用、および SGLT 阻害剤による抑制作用を検討する必要がある。さらに、培養細胞を用いた受容体等のたんぱく質強制発現系を用いて、分子メカニズムを解析する必要がある。このように総合的な検討を行うことにより、味覚相互作用における塩の役割を解明したい。

#### 6. 文献

1. 浜島教子: 味の相互関係について (第 1 報) 塩から味と甘味の関係. 家政学雑誌 **20**: 19-23 (1969).

2. 内田あゆみ, 高木菜央, 堀切理恵子, 松江美穂, 内山裕美子, 大森正司: 塩味と甘味の対比効果に関する研究. 大妻女子大学家政系研究紀要 **49**: 71-76 (2013).
3. Yasumatsu K, Ohkuri T, Yoshida R, Iwata S, Margolskee RF, Ninomiya Y: Sodium-glucose cotransporter 1 as a sugar taste sensor in mouse tongue. *Acta Physiol* **230**: e13560 (2020).
4. 吉田竜介, 實松啓介: 塩による甘味増強のメカニズム. ソルトサイエンス研究財団報告書 (助成番号: 1845), (2020).
5. Breslin PAS, Izumi A, Tharp A, Ohkuri T, Yokoo Y, Flammer LJ, Rawson NE, Margolskee RF: Evidence that human oral glucose detection involves a sweet taste pathway and a glucose transporter pathway. *PLoS ONE* **16**: e0256989 (2021).
6. Wright EM, Loo DDF, Hirayama BA: Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol Rev* **91**: 733-794 (2011).
7. Oyama Y, Yamano H, Ohkuma A, Ogawara K-I, Higaki K, Kimura T: Carrier-mediated transport systems for glucose in mucosal cells of the human oral cavity. *J Pharm Sci* **88**: 830-834 (1999).
8. Joseph PV, Mennella JA, Cowart BJ, Pepino MY: Psychophysical tracking method to assess taste detection thresholds in children, adolescents, and adults: the taste detection threshold (TDT) test. *J Vis Exp* **170**: e62384 (2021).
9. Bartoshuka LM, Duffy VB, Green BG, Hoffmand HJ, Koe CW, Lucchinaf LA, Marksc LE, Snydera DJ, and Weiffenbachd JM: Valid across-group comparisons with labeled scales: the gLMS versus magnitude matching. *Physiol Behav* **82**: 109-114 (2004).
10. Aitken RC: Measurement of feelings using visual analogue scales. *Proc R Soc Med* **62**: 989-993 (1969).
11. Harms-Ringdahl K, Carlsson AM, Ekholm J, Raustorp A, Svensson T, and Toresson H-G: Pain assessment with different intensity scales in response to loading of joint structures. *Pain* **27**: 401-411 (1986).
12. Inoue T, Takemura M, Fushimi N, Fujimori Y, Onozato T, Kurooka T, Asari T, Takeda H, Kobayashi M, Nishibe H,

- Isaji M: Mizagliflozin, a novel selective SGLT1 inhibitor. *Eur J Pharmacol* **806**: 25–31 (2017).
13. Damak S, Rong M, Yasumatsu K, Kokrashvili Z, Varadarajan V, Zou S, Jiang P, Ninomiya Y, Margolskee RF: Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3. *Science* **301**: 850–853 (2003).
14. Delay ER, Hernandez NP, Bromley K, Margolskee RF: Sucrose and monosodium glutamate taste thresholds and discrimination ability of T1R3 knockout mice. *Chem Senses* **31**: 351–357 (2006).
15. Glendinning JI, Stano S, Holter M, Azenkot T, Goldman O, Margolskee RF, Vasselli JR, and Sclafani A: Sugar-induced cephalic-phase insulin release is mediated by a T1r2+T1r3-independent taste transduction pathway in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **309**: R552–R560 (2015).
16. Glendinning JI, Frim YG, Hochman A, Lubitz GS, Basile AJ, Sclafani A: Glucose elicits cephalic-phase insulin release in mice by activating  $K_{ATP}$  channels in taste cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **312**: R597–R610 (2017).
17. Yee KK, Sukumaran SK, Kotha R, Gilbertson TA, Margolskee RF: Glucose transporters and ATP-gated  $K^+$  ( $K_{ATP}$ ) metabolic sensors are present in type 1 taste receptor 3 (T1r3)-expressing taste cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **108**: 5431–5436 (2011).
18. Toyono T, Seta Y, Kataoka S, Oda M, Toyoshima K: Differential expression of the glucose transporters in mouse gustatory papillae. *Cell Tissue Res* **345**: 243–252 (2011).
19. Wright EM, Ghezzi C, Loo DDF: Novel and unexpected functions of SGLTs. *Physiology (Bethesda)* **32**: 435–443 (2017).
20. Vandenbeuch A, Kinnamon SC: Why low concentrations of salt enhance sweet taste. *Acta Physiol (Oxf)* **230**: e13560 (2020).
21. Merigo F, Benati D, Cristofolletti M, Osculati F, Sbarbati A: Glucose transporters are expressed in taste receptor cells. *J Anat.* **219**: 243–252 (2011).
22. Gorboulev V, Schürmann A, Vallon V, et al:  $Na^+$ -D-glucose cotransporter SGLT1 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose-dependent incretin secretion. *Diabetes* **61**: 187–196 (2012).
23. Gribble FM, Williams L, Simpson AK, Reimann F: A novel glucose-sensing mechanism contributing to glucagon-like peptide-1 secretion from the GLUTag cell line. *Diabetes* **52**: 1147–1154 (2003).
24. Nichols CG.  $K_{ATP}$  channels as molecular sensors of cellular metabolism. *Nature* **440**: 470–476 (2006).
25. Kuhre RE, Frost CR, Svendsen B, Holst JJ: Molecular mechanisms of glucose-stimulated GLP-1 secretion from perfused rat small intestine. *Diabetes* **64**: 370–382 (2015).
26. Ogata H, Seino Y, Harada N, et al:  $K_{ATP}$  channel as well as SGLT1 participates in GIP secretion in the diabetic state. *J Endocrinol* **222**: 191–200 (2014).
27. Parker HE, Adriaenssens A, Rogers G, et al: Predominant role of active versus facilitative glucose transport for glucagon-like peptide-1 secretion. *Diabetologia* **55**: 2445–2455 (2012).
28. Sukumaran SK, Yee KK, Iwata S, Kotha R, Quezada-Calvillo R, Nichols BL, Mohan S, Pinto BM, Shigemura N, Ninomiya Y, Margolskee RF: Taste cell-expressed a-glucosidase enzymes contribute to gustatory responses to disaccharides. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**: 6035–6040 (2016).
29. Atsumi N, Yasumatsu K, Takashina Y, Ito C, Yasui N, Margolskee RF, Yamashita A: Chloride ions evoke taste sensations by binding to the extracellular ligand-binding domain of sweet/umami taste receptors. *eLife* **12**: e84291 (2023).
30. 田中伽奈, 桂川晴花, 近藤高史: NaCl 添加によるうま味の増強効果の定量的解析. 日本味と匂学会誌 **31**: 33–40 (2024).

## Enhancement of Sweet Taste by Salts

Takashi Kondoh

Department of Food Science and Nutrition, Faculty of Agriculture, Kindai University

### Summary

Sweet taste of sugars (such as sucrose, fructose, and glucose) is enhanced by adding small amounts of NaCl in humans. Therefore, the phenomenon has been explained as contrast (integration) between sweet and salty sensations occurred in the brain. However, recent studies of mouse experiments demonstrated involvement of sodium-glucose cotransporter (SGLT) expressed in the sweet cells on the tongue. Here we investigated if SGLT hypothesis was also supported in humans. Fifteen healthy University students (female, 21-22 years-old) were used for sensory evaluations. Addition of 0.1% (17 mM) NaCl enhanced sweetness of all natural and artificial sweeteners tested (glucose, galactose, sucrose, fructose, and sucralose) with the most effectiveness for glucose. Effects of NaCl reached the maximum at 0.1%. The enhancement was reduced, but not abolished, by phlorizin (a nonselective inhibitor for SGLT1-6) as well as a SGLT1-selective inhibitor mizagliflozin. Effects of Na or Cl salts on enhancement of sweetness for glucose was limited compared to NaCl. Sucrose in the oral cavity for 3 min did not produce detectable concentration of glucose. These results suggest that not only SGLT, especially SGLT1, but also other mechanisms are involved for the enhancement of sweet taste by NaCl in humans.