

氏 名	なる 成 かわ 川 まさ 真 たか 隆
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1565 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 学 専 攻
学位論文題目	Studies on umami perception and intracellular transduction mechanisms (うま味の認知と細胞内情報伝達メカニズムに関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 松 村 康 生 教 授 内 海 成 教 授 伏 木 亨

論 文 内 容 の 要 旨

近年、味細胞において複数のうま味受容体候補分子が報告され、うま味受容メカニズムの解明に向けて急速な進展が見られる。しかし、味細胞中のシグナル伝達経路や味神経レベルにおける応答など、うま味受容に関わる末梢から中枢に至る多くのメカニズムがいまだ明らかとなっていない。本研究では、一連のうま味認知メカニズムを解明するための系統的研究の一環として、個体・神経・細胞レベルにおけるうま味応答を包括的に記録・収集・解析した。

1 章 ヒトにおけるうま味の認知と相乗効果

アミノ酸受容体として報告された T1R1+T1R3 は、L-アミノ酸に対して選択的に応答を示し、その中でも L-グルタミン酸塩に対して大きな応答を示すこと、また、うま味の特徴である核酸系うま味物質存在下で相乗効果応答を示すことから、現在、主要なうま味受容体として考えられている。1章では、官能検査により T1R1+T1R3 アゴニストに対する味覚応答プロファイル調べ、T1R1+T1R3 がうま味受容体として機能する可能性を検討した。T1R1+T1R3 アゴニストであるアミノ酸6種、グルタミン酸ナトリウム (MSG)、アスパラギン酸ナトリウム、グリシン、セリン、リジン塩酸塩、プロリンを用い、各溶液の味強度および味質を調べた。同時に核酸系うま味物質であるイノシン酸ナトリウム (IMP) をそれぞれの溶液に加えた際の味強度・味質に与える影響についても調査した。味質を感じない濃度付近の各アミノ酸と IMP を混合した溶液において、すべてのアミノ酸で顕著な味強度の増強が観察された。さらに、IMP の添加により、すべてのアミノ酸でうま味の割合のみが顕著に増加する結果も得られた。このように、T1R1+T1R3 アゴニストによって、うま味の特徴である相乗効果応答 (味強度の増強とうま味の増加) が観察されたことから、T1R1+T1R3 がうま味受容体として機能する可能性が考えられた。

2 章 マウス味神経におけるうま味応答の測定

2章では、T1R1+T1R3 アゴニストに対する味神経応答プロファイルを調べるために、マウス味神経応答を記録した。舌の前方部を支配する鼓索神経と後方を支配する舌咽神経それぞれの応答を記録し、比較した。味刺激として、1章と同様に、T1R1+T1R3 アゴニストであるアミノ酸溶液6種類とそれぞれに IMP を加えた混合溶液を用いた。その結果、両神経でアミノ酸単独・混合刺激への応答が観察された。このことから、うま味刺激は舌全体で受容されることが示唆された。また、アミノ酸に IMP を加えた場合の応答の増加が、舌咽神経に比べ鼓索神経で大きかったことから、相乗効果は舌の前方部で強く現れると考えられた。これらの結果は、T1R1+T1R3 の特徴と一致することから、この受容体がうま味受容体として機能している可能性が示唆された。

3 章 うま味受容体と共役する G タンパク質の推定

現在、T1R1+T1R3 を含む複数のうま味受容体候補分子が報告されている。いずれの受容体も G タンパク質共役型受容体であると考えられているが、その下流の細胞内情報伝達メカニズムはいまだ明らかとなっていない。そこで、3章では、うま味受容体と共役する G タンパク質を推定するために、カルシウムイメージング法および抗体染色法を用いて検討を行

った。うま味刺激として、MSG+IMP 混合溶液を与えた。その際、百日咳毒素 (PTX) を用いて細胞を処理し、抑制型 G タンパク質を阻害した条件下で、うま味応答を検討した。その結果、PTX 処理により抑制型 G タンパク質を阻害したことで、うま味刺激に応答する味細胞の割合が70%減少することを観察した。このことから、うま味応答は主に抑制型 G タンパク質を経て伝達されと考えられた。次に、混合刺激に応答した細胞を、味組織特異的な抑制型 G タンパク質である α -gustducin に対する抗体で染色した。混合刺激に応答した味細胞のうち、30%の味細胞が α -gustducin 陽性細胞であった。このように、 α -gustducin 抗体で染色されるうま味応答細胞が確認されたことから、抑制型 G タンパク質の中でも α -gustducin を経て伝達されるうま味応答の存在が示唆された。

4 章 うま味受容体下流におけるシグナル伝達経路の解明

一般に細胞は、細胞外カルシウムを細胞内に流入させる経路と細胞内カルシウムストアからカルシウムを放出させる経路によって細胞内カルシウム濃度を上昇させる。うま味応答にどちらの経路が関与しているのかを推定するために、細胞外からのカルシウムの流入を阻害した条件下、あるいはタプシガルギンを用いて細胞内ストアーからカルシウムの放出を阻害した条件下で、うま味刺激 (MSG 単独溶液, MSG+IMP 混合溶液) による細胞内カルシウム濃度の変化を観察した。細胞外カルシウムを除去することで、MSG に応答する細胞のうち、65%の細胞が MSG 応答を失った。一方、MSG+IMP 混合刺激の場合、細胞外カルシウムを除去することにより、混合刺激に応答した細胞のうち、90%の細胞が応答を失った。それに対し、ストアー枯渇条件下では、MSG に応答を示した細胞のうち、50%の細胞が MSG 応答を失った。一方、MSG+IMP 混合刺激に応答を示す細胞では、15%の細胞が応答を失った。以上の結果、比率の違いはあるものの、細胞外カルシウムを除くことによっても、細胞内カルシウムストアを枯渇させることによっても、うま味応答を失う細胞が存在することが明らかとなった。この結果は、うま味応答に伴う細胞内カルシウム濃度上昇メカニズムが、細胞外からのカルシウムの流入と細胞内カルシウムストアからのカルシウムの放出という2つの経路を介することを示唆している。このように、うま味応答に細胞内カルシウムストアの関与が考えられたため、細胞内カルシウムストアからのカルシウム放出に関与する IP₃ 受容体に対する抗体を用いて、混合刺激に応答を示した細胞で抗体染色を行った。その結果、混合刺激に応答する30%の細胞が IP₃ 受容体を発現しており、うま味情報伝達には IP₃ 受容体を介した経路が存在する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

うま味受容メカニズムについて、これまで多方面から研究がなされてきているが、不明な点が多く残されている。本論文は、ヒトを対象とした官能評価法、マウス味神経を用いた神経生理学的手法、及びマウス味細胞を対象とした細胞生理学的手法により、うま味受容メカニズムを統合的に解析したものであり、評価すべき主な点は以下の通りである。

1. ヒトにおいて、アミノ酸受容体 T1R1+T1R3 アゴニストを用いた官能評価試験を行い、T1R1+T1R3 受容体がうま味受容体として機能する可能性を示唆した。
2. マウスにおいて、アミノ酸受容体 T1R1+T1R3 アゴニストを用いた神経生理学的研究を行い、T1R1+T1R3 がうま味受容体として機能する可能性を神経レベルにおいても示唆した。
3. マウス味細胞のうま味応答を指標とした細胞生理学的研究を行い、細胞内うま味情報伝達には、抑制型 G タンパク質が主に関与すること、さらに、抑制型 G タンパク質の中でも α -gustducin と呼ばれる味組織特異的な G タンパク質を経て伝わる、うま味伝達系路が存在することを明らかにした。
4. マウス味細胞のうま味応答を指標とした細胞生理学的研究を行い、うま味受容に伴う細胞内カルシウム濃度上昇メカニズムには、細胞外から細胞内へのカルシウムの流入と細胞内カルシウムストアからのカルシウムの放出という2つの経路が存在することを見出した。

以上のように、本論文は、うま味受容プロセスに対して官能評価学、神経生理学、細胞生理学それぞれの側面から詳細なアプローチを展開することにより、うま味受容メカニズムの一端を明らかにしたものであり、食品科学、品質評価学、栄養科学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成18年2月16日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力

が十分あるものと認めた。