

氏 名	かわい たか ゆき 河 合 崇 行
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1391 号
学位授与の日付	平 成 16 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 応 用 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Studies on the chemoreception of dietary fat by taste bud cells (味蕾細胞における食物油脂の化学受容に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 伏 木 亨 教 授 井 上 國 世 教 授 安 達 修 二

論 文 内 容 の 要 旨

油脂のもつ高度な美味しさは、食感のみならず味蕾細胞への化学的刺激が関与すると想像されてきたがその詳細は未解明であった。近年、食物中の油脂由来の脂肪酸が味蕾細胞で認識されている可能性が報告され、味蕾細胞表面に存在する遅延整流性K⁺依存性チャネルや、有郭乳頭の味蕾細胞に発現するCD36タンパク質などが、いずれも長鎖脂肪酸を認識する機構の候補として考えられてきた。これらの受容機構はいずれも脂肪酸に対するものであるが、食品中に含まれる油脂のほとんどがトリグリセリドであり、この間のギャップを埋める研究は存在しない。本論文は、食物由来のトリグリセリドの一部が味蕾細胞近傍で迅速に加水分解される可能性ならびに生成した脂肪酸の味蕾細胞における認識機構について検討を加えたものであり、本論文の主な内容は以下のように要約できる。

1. 舌の有郭乳頭周辺に分泌されるリパーゼの生理的意義

本論文では、放射性同位元素で標識したトリオレインを含むろ紙を乳頭の表面に数秒間接触させたのち、直ちに分解生成物を抽出し、薄層クロマトグラフィーで各分解物の量比を算出した。その結果、わずか1秒間有郭乳頭に置いたサンプルからでも、明らかなトリオレインの加水分解とオレイン酸の生成が認められた。10秒間有郭乳頭に置いたサンプルでは、10%以上のトリオレインが加水分解されていた。多量のリパーゼを含むエブネル腺分泌液に浸されている有郭乳頭溝内の味蕾細胞近傍では、さらに多くの脂肪酸が油脂の摂取後瞬時に生成していることが考えられ、食品中のトリグリセリドの一部が脂肪酸に加水分解されて味蕾細胞を刺激することを示唆する結果である。

2. 舌リパーゼの阻害剤がトリグリセリドの嗜好性に与える影響

舌リパーゼ活性を阻害する薬物であるオルリスタットを混和した油脂を用いて、ラット短時間二瓶選択試験を行った。脂肪酸であるオレイン酸およびリノール酸への嗜好性はオルリスタットの影響を受けなかったが、トリグリセリドであるトリオレインおよびトリリノレインへの嗜好性はオルリスタットを混和することにより大きく減少した。食品中のトリグリセリドは舌リパーゼで脂肪酸に加水分解されて初めて好ましい味として選択されることを示唆している。

3. 油脂の受容における脂肪酸結合タンパク質CD36の関与

CD36は、脂肪細胞の脂肪酸取り込みに関わるタンパク質として報告されて以来、小腸上皮細胞、筋肉細胞など種々の細胞に発現していることが明らかにされている。特に舌の有郭乳頭味蕾細胞に発現していることは味覚関連の研究者の注目するところである。本論文ではこのCD36に着目してCD36ノックアウトマウスを用いて油脂受容との関係を詳細に検討している。二瓶選択法によって、ワイルドタイプ (WT) およびCD36ノックアウト (KO) マウスの油脂に対する嗜好性を調べた結果、KOマウスではオレイン酸に対する高い嗜好性が消失していた。CD36を介した脂肪酸との相互作用が油脂の受容に必要であることを示唆するものである。

口腔内の油脂は舌の奥の存在する有郭乳頭と葉状乳頭の味蕾細胞に受容され、舌咽神経舌枝を介して脳に刺激が伝わると考えられている。舌咽神経舌枝の神経活動を記録しながら有郭乳頭に脂肪酸を呈示すると、WTマウスでは、脂肪酸呈示直

後より舌咽神経舌枝に小さな神経活動亢進が認められ呈示後もその活動は維持された。しかし、KOマウスではWTマウスと異なり脂肪酸呈示後には舌咽神経舌枝の神経活動が基底レベルにまで低下した。

4. 油脂による味蕾細胞内カルシウム濃度変化の検出

味物質が味蕾細胞上のレセプターと結合したりイオンチャネルを通過する際に細胞内カルシウム濃度が上昇することが報告されている。本論文では、油脂が味物質と同様に味蕾細胞を刺激するならば味蕾細胞内カルシウム濃度の変化が観察されたと考え、これを検出する実験を行っている。マウス有郭乳頭より単離した味蕾をガラス上に固定し、細胞内カルシウム濃度を検出する蛍光試薬を細胞内に導入した後に細胞外液に脂肪酸溶液を添加した結果、一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸、多価不飽和脂肪酸であるリノール酸およびリノレン酸が味物質と同様に味蕾細胞内カルシウム濃度を著しく上昇させることを見いだした。

論文審査の結果の要旨

油脂が口腔内で化学受容されることは、脂肪酸と相互作用する味蕾細胞表面の遅延整流性 K^+ 依存性チャネルの発見や脂肪酸結合タンパク質が味蕾細胞表面に特異的に発現していることなどの報告によって近年注目を集めている。また、油脂の受容がトリグリセリドの形態かあるいは脂肪酸の形で認識されるのかについても未解明の点が多い。本論文は、食物由来のトリグリセリドの一部が味蕾細胞近傍で瞬時に加水分解されて生じた脂肪酸が味蕾細胞に認識される可能性に言及し、さらに、油脂の味わいに関わる脂肪酸の味蕾細胞における認識機構について検討を加えたものである。評価できる主な成果は以下の通りである。

1. 舌の有郭乳頭が浸されているエブネル腺分泌液中のリパーゼによってトリグリセリドが瞬時に分解されることの証明

本論文では、放射性同位元素で標識したトリオレインを用いて、わずか1秒間有郭乳頭に置いたサンプルからでも、トリオレインの加水分解とオレイン酸の生成が起こることを明確に示している。油脂の味わいに関わると考えられている有郭乳頭の味蕾細胞は多量のリパーゼを含むエブネル腺分泌液に浸されており、食品中の油脂はこの液をくぐって味蕾細胞に到達することを考えると、この発見は、味蕾細胞近傍ではさらに多くの脂肪酸が油脂の摂取後に瞬時に生成している可能性を示唆するものであり、新規性と説得力に富む点で高く評価できる。

2. 舌リパーゼの阻害剤がトリグリセリドの嗜好性に与える影響の観察

舌リパーゼ活性の阻害薬物であるオルリスタットをトリグリセリドに混和すると、ラットは、この油脂を好まなくなる。脂肪酸に舌リパーゼの阻害剤を混和しても影響は見られない。これらの知見は、食品中のトリグリセリドは舌リパーゼで脂肪酸に加水分解されて初めて好ましい味としてラットに受容されることを示唆するものであり評価できる。

3. 油脂の受容における脂肪酸結合タンパク質CD36の関与

本論文ではCD36ノックアウトマウス（KOマウス）を用いて、油脂受容とCD36との関係を詳細に検討している。KOマウスではオレイン酸溶液に対する嗜好性が消失していること、舌を脂肪酸で刺激した際の舌咽神経活動が低いことの二点から、CD36は脂肪酸の受容に生理的に重要であることを明らかにしている。

4. 油脂による味蕾細胞内カルシウム濃度変化の検出

本論文では、油脂が味物質と同様に味蕾細胞を刺激するならば味蕾細胞内カルシウム濃度の変化が観察されたと考え、共焦点蛍光顕微鏡を用いて味蕾細胞のカルシウム濃度変化を検出する実験を行っている。細胞外液に脂肪酸溶液を添加した結果、一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸、多価不飽和脂肪酸であるリノール酸およびリノレン酸が味物質と同様に味蕾細胞内カルシウム濃度を著しく上昇させることを見いだしている。この知見は、神経活動記録や動物行動学的な観察とは異なる方法で口腔内における脂肪酸の化学受容を示唆することに寄与している。

以上のように、本論文は、油脂の味わいの基になる油脂の口腔内化学受容に関して、食物中のトリグリセリドが味蕾細胞近傍で瞬時に加水分解されて生じた脂肪酸が味蕾細胞に認識される可能性に言及するとともに、脂肪酸の味蕾細胞における認識機構についてCD36の生理的な重要性を明らかにしたものであり、食品科学、食品栄養学、味覚生理学の発展に寄与するところが多い。

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16年1月9日、論文なら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。