

氏 名	井 關 桂 子
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1319 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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 signal transduction mechanisms of umami taste synergism (うま味における相乗効果発現の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 森 友 彦 教 授 伏 木 亨 教 授 北 畠 直 文
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

うま味は5番目の基本味として最近認められるようになった。うま味物質として、グルタミン酸ナトリウム (MSG) や核酸が知られており、これらを混合するとうま味の相乗効果と言う現象が現れる。本研究では、うま味の相乗効果に注目し、各種グルタミン酸受容体 (GluR) アゴニストの単独刺激と核酸のひとつであるイノシン酸ナトリウム (IMP) との混合物による刺激に対する応答について、ホールセルパッチクランプ法を用いて電気生理学的に解析し、うま味の応答特性に関する知見を集積し、うま味受容体モデルを提示した。

第1章では、MSG 単独刺激と MSG と IMP の混合刺激に対する電気生理学的応答の特徴について検討を行った。MSG 単独刺激、MSG+IMP 混合刺激に対して味細胞が3タイプの応答 (一過性内向き電流、持続性内向き電流、外向き電流) を示し、IMP 添加で2タイプの内向き電流応答が顕著に大きくなることを見出した。この結果から、MSG 刺激応答と MSG+IMP 混合刺激応答を比較することにより、相乗効果応答が見出され、味細胞レベルでうま味の相乗効果が現れることを電気生理学的に示した。

第2章では、イオノトロピック型 GluR アゴニスト (NMDA, KA, AMPA) を用いたうま味応答の検討を行った。第1章の結果で、顕著であった相乗効果応答を指標にして、うま味応答にイオノトロピック型 GluR が関与しているかどうかについて検討を行った。その結果、NMDA および KA の単独刺激、NMDA と IMP の混合刺激で内向き電流応答が見られたが、IMP を添加した混合刺激による応答と比較して、顕著な内向き電流の上昇、すなわち相乗効果応答は見られなかった。以上の結果から、イオノトロピック型 GluR は MSG 刺激で見られた内向き電流応答に関与している可能性があるが、相乗効果応答には寄与していないことが示唆された。

第3章では、代謝型 GluR アゴニストを用いたうま味応答の解析を行った。代謝型 GluR のグループⅢのアゴニスト L-AP4 (うま味受容体候補に挙げられている mGluR4 のアゴニスト) と、また、これと異なるグループⅠ/Ⅱのアゴニストである *trans*-ACPD を用いて検討を行った。1mM の *trans*-ACPD および L-AP4 の単独刺激で抑制性の外向き電流応答のみが、0.5mM の IMP との混合による刺激では、いずれにおいても外向き電流応答だけでなく興奮性の応答である内向き電流応答が見られた。この結果から、*trans*-ACPD および L-AP4 は弱いうま味物質であることから、それぞれ1mM の濃度での単独刺激では活性化されなかったうま味受容体が0.5mM IMP の存在下で活性化されるようになったと考えられる。すなわち相乗効果による応答であることを示した。また、MSG より強いうま味を示すイボテン酸 (1mM) の刺激応答を調べることににより、非常に大きな内向き電流応答が現れることを示した。MSG とイボテン酸刺激において共通に見られたこれら2つの応答パターンの類似性から、両者は同じメカニズムを介している可能性が高いことが示唆された。ついで、G タンパク質がうま味のトランスダクションに関与しているかどうかを明確にするために、G タンパク質不活性化剤である GDP-β-S を用いて MSG+IMP 混合刺激による応答について調べた。その結果、内向き電流応答は全く現れないことを見出し、内向き電流応答に G タンパク質が関与していることを明らかにした。

以上の結果から、以下の特徴を全て兼ね備えた新規のタイプの代謝型 GluR がうま味受容体であることを提示した。すなわち、A) MSG+IMP 混合刺激で MSG 単独刺激よりも興奮性の内向き電流応答を増大させる。B) G タンパク質共役型受容体である。C) うま味物質をアゴニストに持つ (イボテン酸>MSG>L-AP4, *trans*-ACPD)。D) 弱いうま味物質 (L-AP4, *trans*-ACPD) は核酸との混合刺激でのみ興奮性の応答を示す。E) L-AP4 (mGluR4 のアゴニスト) 単独刺激で抑制系の外向き応答だけを示す。

論文審査の結果の要旨

うま味に関わる情報伝達経路については多方面から研究されているが、その全容は未だ明らかにされていない。本論文は、マウス味細胞での味刺激応答を電気生理学的に解析することにより、うま味情報伝達経路について解明を進めたものである。評価される主な点は次の通りである。

1. うま味の相乗効果に注目して、MSG 単独刺激と MSG+IMP 混合刺激に対する電気生理学的応答の特徴について比較検討を行った。味細胞は3タイプの応答(一過性内向き電流, 持続性内向き電流, 外向き電流)を示すことを見出した。これらのタイプのうち2タイプの内向き電流応答が相乗効果応答であることを示し、味細胞レベルでうま味の相乗効果が現れることを明らかにした。

2. イオノトロピック型 GluR アゴニスト (NMDA, KA, AMPA) を用いて、単独刺激と IMP を添加した混合刺激による応答について比較検討を行い、IMP 添加による内向き電流の上昇は見られないことを明らかにした。この結果から、イオノトロピック型 GluR は一過性内向き電流応答に関与している可能性があること、しかし、うま味相乗効果による応答には寄与していない可能性が高いことを示唆した。

3. 代謝型 GluR のグループⅢのアゴニストである L-AP4 と、グループⅠ/Ⅱのアゴニストである *trans*-ACPD を用いて代謝型 GluR のうま味相乗効果への関与について検討を行った。*trans*-ACPD (1mM) および L-AP4 (1mM) の単独刺激で外向き電流応答のみが、IMP (0.5mM) との混合による刺激では、いずれにおいても外向き電流応答だけでなく興奮性の応答である内向き電流応答が見られることを明らかにした。この結果および *trans*-ACPD と L-AP4 が弱いうま味物質であることを考え合わせるにより、それぞれの単独刺激では活性化されないが、IMP の存在下で活性化されるようになるうま味受容体が存在し、相乗効果応答に関与していることを提示した。

4. MSG より強いうま味を示すイボテン酸 (1mM) は非常に大きな内向き電流応答を示すことを見出すとともに、両者は同じメカニズムを介している可能性が高いと考えられることを示した。ついで、G タンパク質不活性化剤である GDP-β-S の作用を調べ、内向き電流応答に G タンパク質が関与していることを明らかにした。

以上のように、本論文は、マウス味細胞でのうま味受容に新規のタイプの代謝型 GluR がうま味受容体として介在することを提示したものであり、食品科学、味覚生理学、生命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15年2月18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。