

食品成分の受容・伝達と生体応答の分子基盤

石丸 喜朗

東京大学大学院農学生命科学研究科 特任准教授

(現 明治大学農学部 専任准教授)

はじめに

ヒトを含め動物は、食物の栄養性(糖・アミノ酸含量)、毒性(苦味強度)、塩濃度、酸性度を、味覚系を用いて評価している¹⁾。口腔内に取り込まれた食物が、主に舌上皮の味蕾に存在する味覚受容体によって受容されると、細胞内シグナル伝達系を介する味細胞の脱分極が引き起こされ、味細胞に投射している味神経に向けて神経伝達物質が放出される。味神経に伝達されたシグナルは、数段階の神経細胞を経由し、最終的に大脳皮質味覚野に到達し、味が認知される。味は、甘味、苦味、酸味、塩味、うま味の5基本味に分類される。近年、末梢組織である味蕾における甘味、苦味、うま味受容の分子機構に関しては、受容体からその下流のシグナル伝達因子など、多くの知見が得られた。一方、酸味と塩味に関しては、味覚受容体をはじめ未解明の問題が数多く残されている。

小腸上皮には、吸収上皮細胞、杯細胞、パネート細胞、内分泌細胞という4種類の主要な細胞の他に、小腸上皮細胞の約0.4%を占める刷子細胞が含まれている。刷子細胞は、60年以上前からその存在が知られていたが、分化制御機構と細胞機能は長い間不明であった。

筆者は食品が生体へ与える影響の全容を解明することを目指し、魚類からげっ歯類、霊長類に至るまで多様な脊椎動物種の味覚・臓性感覚の受容・伝達と生体応答機構に関する研究を展開してきた。以下に主な研究概要を述べる。

1. 魚類味覚受容体の発見

魚類は、哺乳類と同じ脊椎動物に含まれる有用なモデル生物である。筆者は、脊椎動物としては哺乳類に次いで二番目に、魚類の味覚受容体候補を同定した²⁾。哺乳類の味覚受容体と相同性を持つ2種類の味覚受容体ファミリー T1Rと T2Rが、魚類の味蕾細胞特異的に発現することを示した。さらに、各味覚受容体候補間の味蕾中

における発現相関関係を二重あるいは、三重 *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて詳細に解析した。その結果、哺乳類と魚類は、全般的には嗜好と忌避を引き起こす2種類の味覚受容体 T1R・T2R ファミリーを持つという共通の特徴を有する一方で、それぞれに特有の性質を持つ受容体も存在することを明らかにした。さらにこの研究は発展して、魚類味覚受容体のリガンド(味物質)同定に結びついた³⁾。特に、哺乳類では甘味受容体を構成する T1R2が魚類には複数存在し、T1R3との組み合わせで、魚類ではアミノ酸に応答するという興味深い知見を明らかにした。

2. 酸味受容体 PKD1 L3/PKD2 L1 の発見

Transient Receptor Potential (TRP) チャネルファミリー分子は、視覚、嗅覚、温度感覚など様々な感覚系において、受容体やシグナル伝達因子として重要な役割を果たす。筆者は、33種類ある広義の TRP チャネルファミリー分子に関して、マウス有郭乳頭味蕾における網羅的な発現解析を行った。その結果、甘味・苦味・うま味の細胞内シグナル伝達への関与が知られていた *Trpm5* に加えて、2つの分子 *Pkd1l3* と *Pkd2l1* が味蕾中の一部の味細胞特異的に発現することを新たに発見した⁴⁾。1個の味蕾は約50~100個の細胞から成り、古くから電子顕微鏡観察による細胞形態と細胞内微細構造に基づいて、紡錘形をした I 型、II 型、III 型細胞と基底部に存在する丸型の IV 型細胞に分類されている。この発見以前は、甘味・苦味・うま味物質は II 型細胞で受容され、シナプス構造が III 型細胞でしか観察されないことから、III 型細胞は、II 型細胞で感知された味情報を味神経へと伝達する働きをされると考えられていた。しかし、*Pkd1l3* と *Pkd2l1* は舌後部の有郭・葉状乳頭では III 型細胞で共発現し、後述するようにオフ応答を司る酸味受容体として機能することから、III 型細胞は酸味を感知する機能を持つことが示された^{4,5)}。

次に、培養細胞発現系を用いて、両分子が味覚系において果たす役割を解析した。様々な欠失変異体を用いた構造機能相関解析から、両分子はそれぞれの膜貫通領域を介してヘテロマーを形成し、この相互作用が細胞表面における機能的発現に必要であることが示された⁶⁾。また、Ca²⁺イメージング法とパッチクランプ法による機能解析では、クエン酸や酢酸など様々な酸溶液に対して、酸刺激時の「オン応答」ではなく、酸刺激除去後に応答する「オフ応答」を示した^{4,7)}。これは、例えばレモンをかじった時、徐々に唾液が出てきて次第に酸味が強くなる現象の分子基盤と解釈できる。さらに、PKD2 L1の推定ポア領域内に存在する1個のAsp残基が、非選択的陽イオンチャネルであるPKD1 L3/PKD2 L1複合体が示す高いCa²⁺透過性に重要であり、PKD2 L1がポア形成に寄与することを明らかにした⁸⁾。

3. *Pkd113/Pkd211* 遺伝子欠損マウスの作出と表現型解析

生体内における両分子の機能を解明するために、*Pkd113*、*Pkd211*、および、二重欠損マウスを作出し、その表現型を解析した^{6,9)}。まず、PKD2 L1との相互作用に重要な膜貫通領域を欠失させた*Pkd113*欠損マウスの有郭・葉状乳頭味蕾では、野生型と異なり、PKD2 L1タンパク質は味物質と接触する味孔部位に局在せず、細胞質全体に分布していた⁶⁾。つまり、培養細胞発現系と同様に味細胞でも、両分子の膜貫通領域を介した相互作用は、細胞表面への移行に重要であることが明らかになった。次に、様々な酸刺激に対する味神経の応答を電気生理学的な手法を用いて調べた⁹⁾。舌の前半部に散在する茸状乳頭には鼓索神経が投射し、舌の後方にある有郭・葉状乳頭には主に舌咽神経が投射している。*Pkd211*欠損マウスと二重欠損マウスでは、クエン酸、酢酸、塩酸に対する鼓索神経の応答が完全には消失しなかったが、野生型と比較して有意に抑制された。一方、*Pkd113*欠損マウスでは野生型マウスと同様の応答が観察された。この実験結果は、鼓索神経が投射する茸状乳頭では、*Pkd113*は発現せず、*Pkd211*のみ発現するという発現様式を反映していると解釈できる。一方、舌咽神経に関しては、いずれの欠損マウスでも、野生型マウスと同様の応答が検出された。しかし興味深いことに、酸溶液を緩衝液に置換した後の「オフ応答」に注目すると、いずれの欠損マウスでも野生型マウスと比べて有意に減少していた。以上の味神経応答解析の実験結果から、両分子が実際に

酸味受容へ関与することと、他にも未知の酸味受容体が存在することが示された。

4. 酸味情報伝達神経回路の解明

末梢の味蕾で感知された酸味情報がどのように中枢へ伝えられるかを解析した¹⁰⁾。コムギ胚芽レクチン(WGA)は、連絡する神経細胞間をシナプスを介して輸送される性質を持ち、WGAタンパク質を免疫組織学的に検出することによって、特定の神経回路を標識する目的で利用されている。味蕾特異的な組織発現プロファイルを示す*Pkd113*のエンハンサー/プロモーター領域を同定し、酸味受容細胞特異的に経シナプストレーサーWGAを発現するトランスジェニックマウスを作出した。WGAシグナルの分布を詳細に解析したところ、味神経の細胞体が集まる感覚性神経節(NPGとGG)と二次味神経の細胞体が存在する延髄孤束核(NST)で、輸送されたWGAタンパク質の強いシグナルが検出された。つまり、末梢の味蕾から二次味神経に至る二段階の経路まで、酸味情報伝達神経回路を可視化することに成功した。

5. 腸脳軸を介した新しいエネルギー代謝調節機構の解明

小腸上皮には、小腸上皮細胞の約0.4%を占め、分化制御機構と細胞機能が不明である刷子細胞が存在する。転写因子*Skn-1a*欠損マウスでは、味蕾の甘・苦・うま味細胞が完全に消失した結果、これらの味を全く感じられない。まず、*Skn-1a*が味蕾同様に、消化管(胃・小腸)に存在する特定の細胞の分化も制御する可能性を検証した。*in situ*ハイブリダイゼーション法などを用いて発現解析を行った結果、*Skn-1a*は消化管刷子細胞に発現しており、*Skn-1*欠損マウスでは消化管刷子細胞も完全に消失していた。つまり、転写因子*Skn-1a*は消化管刷子細胞の分化も制御していることが示された¹¹⁾。

食品に含まれる味物質などの化合物は、口腔や消化管に存在する細胞によって受容される。この情報は、求心性神経や液性因子(ホルモン、神経ペプチド等)を介して脳に到達・認知され、摂食行動やエネルギー代謝が制御される。そこで次に、消化管刷子細胞と甘・苦・うま味細胞の消失が摂食行動やエネルギー代謝に与える影響を調べた。興味深いことに、*Skn-1*欠損マウスは野生型マウスに比べて、普通食・高脂肪食のいずれにおいても、離乳直後の3週齢から体脂肪の低下を伴う体重減少

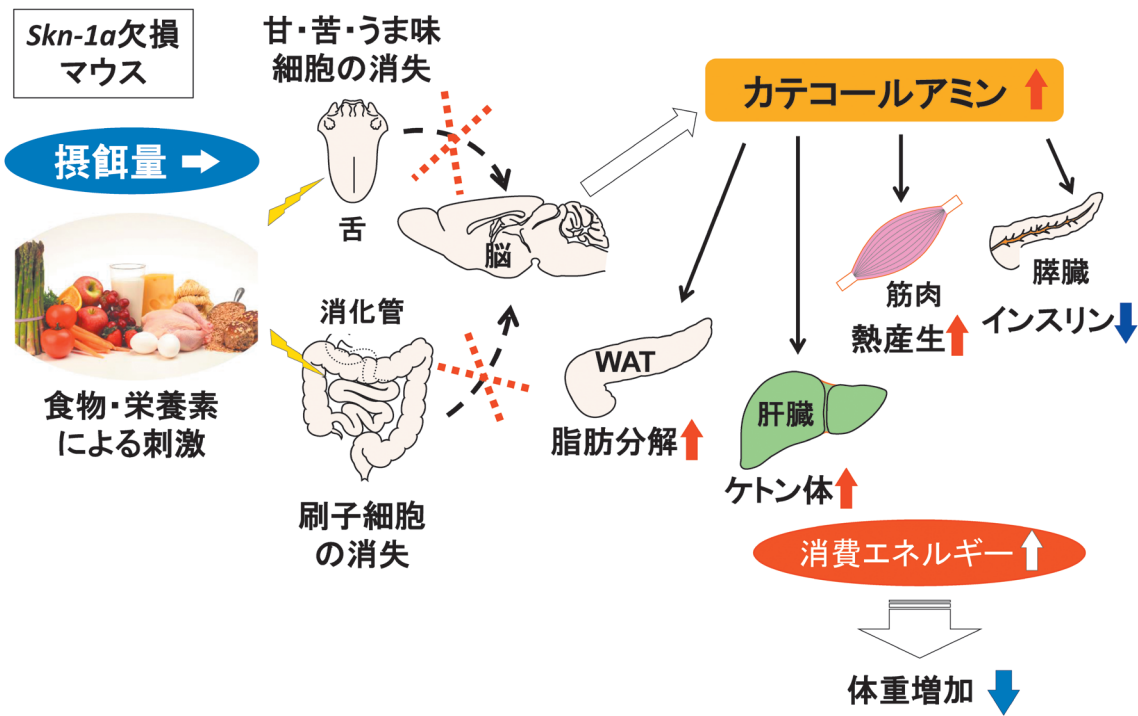


図1 消化管刷毛細胞を起点としたエネルギー代謝制御機構

を示した。体重は摂取エネルギーと消費エネルギーのバランスで決まる。*Skn-1*欠損マウスは摂餌量には差がなかったが、消費エネルギーが増加していた。消費エネルギーを上昇させるホルモンのうち、血清中甲状腺ホルモンに変化は見られなかったが、カテコールアミンの尿中分泌量が*Skn-1*欠損マウスで有意に増加した。その結果、*Skn-1*欠損マウスでは、血清中総ケトン体の上昇、腓腹筋ミトコンドリアのコピー数増加、脂肪分解の亢進、および、インスリン分泌量が低下していることが示された。以上より、刷毛細胞や味細胞を起点とし、脳を介して末梢組織（肝臓・筋肉・脂肪組織など）のエネルギー代謝を制御するという新しい概念を提唱した（図1）。

おわりに

以上のように、筆者は上述した味覚・臓性感覚分野における重要な研究課題に取り組むことによって、我々が口腔内で食物のおいしさを感じてから、消化管で消化・吸収され、全身のエネルギー代謝を制御する一連の「食の科学」の全体像を解明し、最終的に人々の健康増進に資する食品開発に繋がる基盤を確立したいと考えている。

謝 辞

本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科と留学先のデューク大学（アメリカ合衆国）において行ったものです。ご指導賜りました阿部啓子先生（東京大学）と松波宏明先生（デューク大学）を始め、多くの共同研究者と大学院生に心より感謝申し上げます。また、三島海雲翁、今関博理事長、学術委員の先生方を始め、公益財団法人三島海雲記念財団の関係者各位、並びに、本賞にご推薦下さいました日本農芸化学会会長・植田和光先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) K. Yamamoto, Y. Ishimaru: *Semin. Cell Dev. Biol.*, **24**, 240–246, 2012.
- 2) Y. Ishimaru, et al.: *Mech. Dev.*, **122**, 1310–1321, 2005.
- 3) H. Oike, et al.: *J. Neurosci.*, **27**, 5584–5592, 2007.
- 4) Y. Ishimaru, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12569–12574, 2006.
- 5) S. Kataoka, et al.: *Chem. Senses*, **33**, 243–254, 2008.
- 6) Y. Ishimaru, et al.: *FASEB J.*, **24**, 4058–4067, 2010.
- 7) H. Inada, et al.: *EMBO Reports*, **9**, 690–697, 2008.
- 8) C. Fujimoto, et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **404**, 946–951, 2011.
- 9) N. Horio, et al.: *PLoS One*, **6**, e20007, 2011.
- 10) K. Yamamoto, et al.: *J. Neurochem.*, **119**, 497–506, 2011.
- 11) S. Ushiyama, et al.: *EBioMedicine*, **8**, 60–71, 2016.

著者紹介



石丸 喜朗 (イシマル ヨシロウ)

1975年 石川県生れ (大阪府育ち)

2003年 東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程修了、博士 (農学)

2017年 明治大学農学部農芸化学科准教授 (食品機能化学研究室)、現在に至る

主要著書：

Y. Ishimaru, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12569–12574, 2006. など

趣味：トライアスロン