

味覚神経伝達の分子基盤に関する研究

樽野陽幸

京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学 教授

研究業績の要約

味覚は、舌にある化学センサー器官「味蕾」で食品に含まれる化学物質を受容し、脳で味として認識する感覚のことである。甘味・うま味・苦味の味覚情報は、II型味細胞とよばれる味蕾細胞から放出されるATPを神経伝達物質として神経へと伝達されるが、典型的なシナプス構造を持たないII型味細胞からのATP放出の分子メカニズムは長らく不明であった。このメカニズムの解明を目指して行われた本研究では、甘味・うま味・苦味を舌から脳へと伝える分子機構およびその機能修飾機構を明らかにするとともに、“イオンチャネルシナプス”という味覚に特化した新しい神経伝達様式を確立することができた。加えて、これまで不可能であった生体内での味蕾細胞の遺伝子操作方法を確立し、食体験の科学的な理解を深めさらにその操作を可能にする技術開発に成功した。

緒言

我々は舌にある味蕾で食品に含まれる化学物質を受容し、味蕾細胞が神経へと味覚情報を伝達することで脳が味を認識する。味蕾で甘味・うま味・苦味を受容する細胞はII型味細胞に分類される。味物質がII型味細胞の味受容体に結合すると細胞は興奮し、活動電位依存性に神経伝達物質としてアデノシン3リン酸（ATP）が放出され、求心性味神経細胞、ひいては脳へと味情報を伝える。それまで活動電位依存性のATP放出機構はシナプス小胞の開口放出しか知られておらず、II型味細胞は典型的なシナプス構造を持たないため、そのATP放出の分子メカニズムは味覚研究分野において長らく大きな謎であった。近年Pannexin1やConnexinヘミチャネルなどのイオンチャネルの関与が報告され定説となりつつあったが、根拠となるデータには矛盾点が多く、「味をささえる味覚神経伝達の分子基盤」、すなわち「味を舌から脳へと伝えるしくみ」が未解明であった。本研究では、典型的シナプスを持たないII型味細胞の神経伝達の

分子機構の全容解明を目指して研究を行ってきた。

主な研究成果

①新規ATP放出チャネルCALHM1の発見¹⁻³⁾

Calcium Homeostasis Modulator 1 (CALHM1) は巨大なイオン透過ポアをもつ電位依存性イオンチャネルである。候補者は巨大ポアに着目し、大きな生理活性物質の透過性を予想し(図1A)、様々な培養細胞でCALHM1ポアを通過し細胞外に放出されるアデノシン3リン酸(ATP)のルシフェラーゼアッセイを用いた実測に成功した(図1B)。ATPは細胞外シグナル分子として様々な生理機能を担う。新規ATP放出チャネルCALHM1の発見はATPシグナル研究の新たな分子標的を与える。

②甘味・うま味・苦味の神経伝達物質放出チャネルの必須分子CALHM1の同定¹⁻³⁾

甘味・うま味・苦味を舌から脳へ味を伝える機構、つまりII型味細胞から味神経への神経伝達においてはATPが伝達物質であることは知られていたが、II型味細胞のATP放出分子機構についてはPannexin1やConnexinヘミチャネルの関与など諸説あったが決定的証拠を欠いていた。研究成果①に基づき、CALHM1が味細胞のATP放出に関与するという仮説を立て、CALHM1欠損マウスを用いた組織学的解析・単離II型味細胞におけるイオン電流測定・味蕾ATP放出の測定・味覚応答解析(味神経応答記録・味覚行動実験)を駆使して、CALHM1がII型味細胞におけるATP放出チャネルの必須分子であることを解明した(図2)。

しかし、この研究成果は新たな疑問を生み出した。味細胞における速い活性化を示す内在性ATP放出チャネルと活性化の遅い強制発現系におけるCALHM1電流には電位依存性ゲート機構に決定的な齟齬が存在し、味細胞にCALHM1機能を修飾する未知の因子の存在が示唆された(図2)²⁾。さらにこの因子の解明に向けた研究を

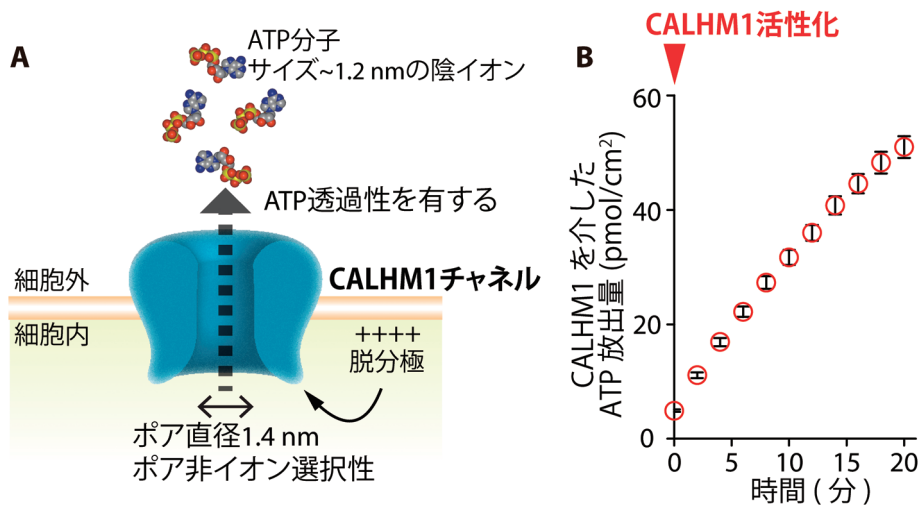


図1 新規電位依存性ATP放出チャンネルCALHM1。(A) CALHM1はATP分子より大きなイオン透過ポアをもち、脱分極により活性化する。(B) CALHM1活性化により細胞外に放出されるATPの実測データ。

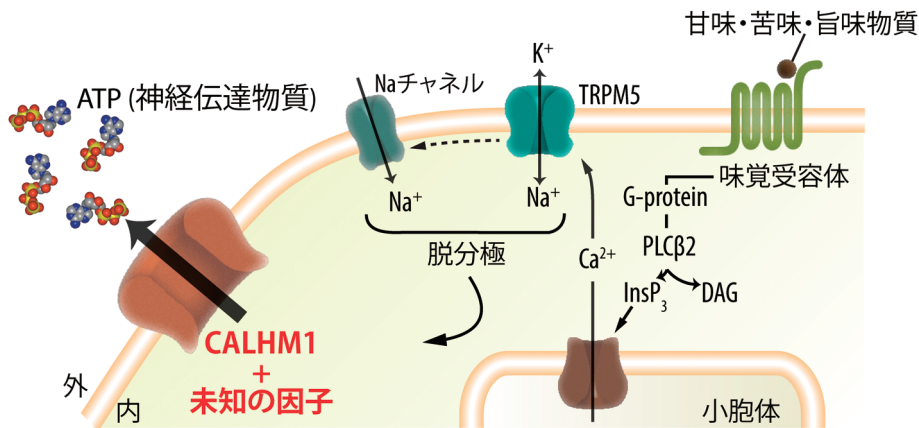


図2 甘味・苦味・うま味を受容するII型味細胞における細胞内シグナルカスケード。CALHM1と未知の因子からなるイオンチャンネルが神経伝達物質ATPの放出を担う。

行い、以下の研究成果③④を得た。

③味蕾でのパルミトイル化によるCALHM1機能調節機構の発見⁴⁾

CALHM1分子内の翻訳後修飾の違いが上記の機能差異の原因であるという仮説を立て、CALHM1の翻訳後修飾を探索した。様々な化学修飾を受けるシステイン残基(C)に着目し、変異体スクリーニングからC100とC207にパルミトイル化とよばれる可逆的脂質修飾を発見した(図3A)。パルミトイル化の検出にはトリチウムによる代謝ラベルや、アシル-ビオチン交換法などの生化学的手法を駆使した。また、23あるパルミトイル化酵素のスクリーニングにより、3つのCALHM1パルミトイル化酵素DHHC3/7/20を同定した。さらにパルミトイル化がCALHM1の電位依存性を制御すること

(図3B)、味細胞に発現するCALHM1がパルミトイル化を受けていること、を明らかにした。これは初めて見つかったCALHM1機能調節機構であり、味覚神経伝達の調節メカニズムを含めた全容解明に資する発見である。

④II型味細胞神経伝達物質放出チャンネルの分子実体CALHM1/CALHM3の同定⁵⁾

③の結果もまだ味細胞の内在性ATPチャンネルの機能を完全には説明できなかった。そこで、CALHM1チャンネルの未知の修飾サブユニットの存在が上記の機能差異の原因であるという仮説を立て、CALHM1に結合する分子を探索した。その結果、新たなCALHM1の修飾サブユニットCALHM3を発見し、CALHM1/CALHM3複合体が内在性味細胞ATP放出チャンネルと同一の性質を持つ電位依存性ATP放出チャンネルとして機能すること

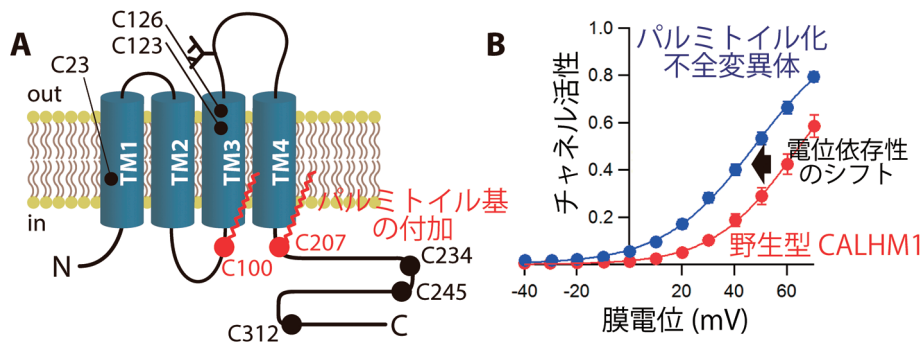


図3 CALHM1のPALMITOYL化修飾による機能制御。(A) CALHM1のPALMITOYL化部位C100、C207の同定。C、システイン残基；TM, transmembrane domain。(B) PALMITOYL化は電位依存性ゲート機構を負に制御する。

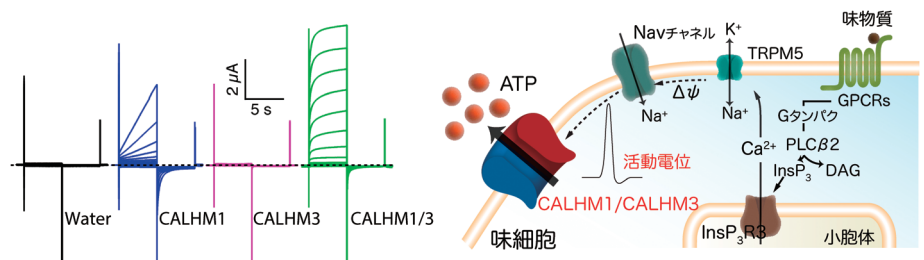


図4 II型味細胞神経伝達物質放出チャネルCALHM1/CALHM3の同定。CALHM3との共発現によりCALHM1のゲート機構が促進される（左）。ATP放出チャネルの分子実体をCALHM1/CALHM3としたII型味細胞内シグナルカスケード（右）。

を電気生理学的な方法を駆使して明らかにした（図4）。さらにCALHM1と同様に、マウスにおけるCALHM3ノックアウトがII型味細胞ATPチャネル電流・ATP放出および味認識（甘味・うま味・苦味）を消失させたことから、CALHM1/CALHM3複合体がII型細胞の神経伝達物質放出機構の分子実体であると結論づけた。

本研究結果により、味を舌から脳へと伝える分子レベルの仕組みを明らかにするとともに、イオンチャネルによる神経伝達物質の放出という“イオンチャネルシナプス”の概念を分子レベルで確立することに成功した。

⑤ウイルスベクターを用いた生体内味細胞への遺伝子導入の技術開発^{6,7)}

遺伝子治療や基礎研究などで、生体内の遺伝情報を書き換えたり外来遺伝子を導入する方法は多くの組織で用いられるが、もっとも効率的な方法はウイルスベクターを用いる方法である。味覚の基礎研究あるいは人為的制御にもこの方法は有用であるはずだが、その方法は確立されていなかった。特に味蕾は50-100個もの細胞が密集した構造をとっており、ウイルスの感染効率や導入方法の困難さが障壁となっていた。そこで、最新の6種類のアデノ随伴ウイルスベクターおよびレンチウイルス

スペクターを独自に開発した方法でマウスの舌に注入し、外来遺伝子の発現パターンを詳細に観察し、AAV-DJベクターが味細胞感染に最適であることを発見した。この方法は上記のCALHM1チャネルを含む味覚に関わる遺伝子の生体内機能解析・操作の強力なツールとなる研究成果である。

結 言

肥満・糖尿病・高血圧など生活習慣病が蔓延する飽食の現代においては、食の喜びを損なわずに健康を維持する方策が食品業界、さらには予防医学の観点から医療業界においても強く求められている。この問題に科学的なアプローチで取り組むためには我々の食行動にもっとも深く関与する味覚のメカニズムを分子レベルで理解することが必要不可欠である。特に甘味・うま味・苦味は我々の食の嗜好を決定する重要な味覚であり食体験において重要な意味をもつ。上にあげた研究成果は、舌から脳へとこれらの味覚情報をアウトプットする分子レベルの仕組みを世界で初めて解明したものである。この仕組みを人為的に一つまり食品成分や薬によって一制御（チューニング）する方法が今後の食品業界・創薬業界の研究テーマとして波及し、新しいマーケットが創造さ

れ、ひいては人々の食の喜びと健康を維持する、そのような未来につながる基礎研究であると考え。

さらに、本研究で発見したCALHM1/3チャンネルは活動電位によって素早く活性化し、神経伝達物質を放出することのできる現在知られる唯一のイオンチャンネルである。これまで、神経伝達物質の放出は全てシナプス小胞のエキソサイトーシスによると考えられてきたが、本研究によってイオンチャンネルによる神経伝達物質の放出を実証し、さらには活動電位依存性神経伝達物質放出チャンネルを発見した。このように、古典的な小胞性シナプスに対し、“イオンチャンネルシナプス”という全く新しい神経伝達様式を確立することができた。このイオンチャンネルシナプスは現在のところ味細胞にのみ見られる類例のない全く新しい神経伝達様式である。では味覚はなぜこのような特殊な神経伝達様式を取らなければならないのだろうか？イオンチャンネルシナプスの構造・発生・動作原理が今後明らかになれば、他の感覚系とは違う味覚の特殊性・本質が明らかになっていくことが期待される。

謝 辞

本研究の遂行にあたり多大なるご指導とご支援をいただきましたペンシルバニア大学のJ Kevin Foskett教授および多くの共同研究者の皆様方に謝意を表します。また、本研究成果をお認めいただき荣誉ある学術賞を授けていただいた三島海雲記念財団およびそのご関係者様にも深く御礼申し上げます。

文 献

- 1) A. Taruno, et al.: *Nature*, **495**, 223–226, 2013.
- 2) A. Taruno, et al.: *BioEssays*, **35**, 1111–1118, 2013.
- 3) A. Taruno: *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, 808, 2018.
- 4) A. Taruno, et al.: *J. Physiol.*, **595**, 6121–6145, 2017.
- 5) Z. Ma, et al.: *Neuron*, **98**, 547–561, 2018.
- 6) A. Taruno, et al.: *Chem. Senses*, **42**, 69–78, 2017.
- 7) A. Taruno, M. Kashio: AAV-Mediated Gene Delivery to Taste Cells of the Tongue (Michael J. C., ed.), *Method. Mol. Biol.*, “Adeno-Associated Virus Vectors: Design and Delivery”, Springer, Berlin: 1950; pp. 299–307, 2019.

著者紹介



樽野 陽幸 (タルノ アキユキ)

1982年 京都府生まれ
2007年 3月 京都府立医科大学 医学部卒
2010年 3月 京都府立医科大学 大学院医学研究科 博士課程修了
2010年 3月 博士 (医学) の学位取得 (京都府立医科大学)
2010年 4月 アメリカ合衆国ペンシルバニア大学医学部生理学部門 博士研究員
2013年 4月 京都府立医科大学 大学院医学研究科 細胞生理学 助教
2014年 4月 京都府立医科大学 大学院医学研究科 細胞生理学 講師
2018年 9月 京都府立医科大学 大学院医学研究科 細胞生理学 教授

基本5味の受容機構についての分子レベルの理解は進んできたが、統合的なおいしさ・まずさの神経基盤はほとんどわかっていない。今後、実際のわれわれの食体験を分子・細胞レベルの解像度で理解できるような研究を行いたい。