

味細胞種の多様性を産出する分子機構

應 本 真

高崎健康福祉大学健康福祉学部健康栄養学科 講師

緒 言

脊椎動物では、口腔内の上皮層に分布する味蕾と呼ばれる組織に存在する味細胞において食品中の化学物質が受容され、その情報が中枢に伝達されることにより様々な味が生じる。我々ヒトが認知・識別できる甘味、旨味、苦味、酸味、および塩味は5基本味と呼ばれる。哺乳類では、甘味や旨味はT1Rファミリーに、苦味はT2Rファミリーに属するGタンパク質共役型受容体（GPCR）を発現する味細胞、酸味はOtop1やPkd2l1を発現する味細胞、塩味はENaCaを発現する味細胞により受容されるように、これらの各基本味は互いに異なる味細胞の活性化により生じることが明らかとなっている¹⁻³。味細胞の寿命は数週間であるが、上皮系幹細胞から絶えず供給されており、この味細胞ターンオーバーにより味覚の恒常性は維持されている。したがって、味覚の多様性は味細胞種の多様性であり、多様な味細胞が恒常的に作り出されることにより、我々は常に様々な味を感じることができる。

こうした味覚の恒常性を明らかにするためには、味細胞種がどれくらい存在するのか、味細胞がどのように産み出され、それぞれの機能を持った味細胞へと分化するのか、といったことを知る必要がある。筆者らは、多様な味を常に感じる仕組みを解明することを目的として、モデル動物（ゼブラフィッシュおよびマウス）を用い、味細胞種の多様性、および、味細胞種の多様性を産出する細胞・分子機構の解明を試みてきた。

結 果

1. 脊椎動物の味蕾における味細胞の多様性

脊椎動物において最も進化的に遠い哺乳類と魚類は、味覚受容体T1RsおよびT2Rsの下流で機能するPLC- β 2やTRPM5などの細胞内情報伝達系が保存されている。しかし、哺乳類の味細胞でT1RsあるいはT2Rsと共役するGタンパク質 α サブユニット遺伝子（ α -gustducin, Gnat3）の相同遺伝子が魚類のゲノム中には存在しない

という違いがあり、その分子実態は解明されていなかった。筆者らは、ゼブラフィッシュにおいて、Gnat3に代わり魚類味細胞に発現していることが予想されるGna遺伝子を探索したところ、PLC- β 2を発現する味細胞において互いに異なる味細胞に発現するGnaiaおよびGna14を新たに同定した⁴。興味深いことに、ゼブラフィッシュの味蕾に発現することが知られていた味覚受容体T1RsおよびT2Rsは、いずれもGnaiaを発現する細胞の一部にのみ発現しており、Gna14発現細胞には観察されなかった⁴。このことから、魚類の味蕾において、既知味覚受容体（T1RsおよびT2Rs）を発現していないGnaia発現細胞およびGna14発現細胞には未同定のGPCRが味覚受容体として機能しており、魚類味蕾には

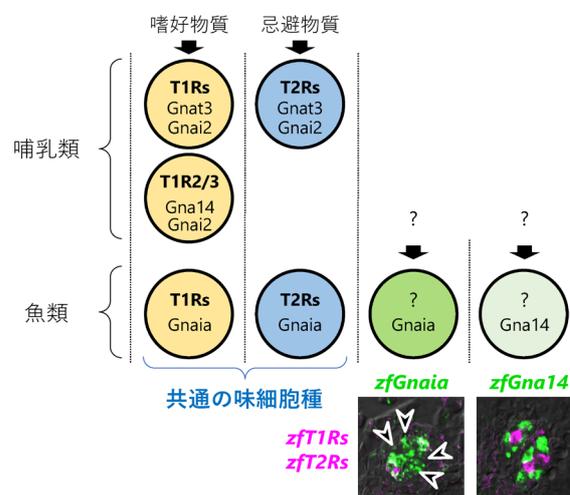


図1 哺乳類と魚類の味細胞種の比較

in situハイブリダイゼーション解析により、魚類（ゼブラフィッシュ）の味蕾における味覚受容体とGタンパク質の発現解析を行ったところ、既知の味覚受容体zfT1Rs（嗜好物質であるアミノ酸の受容体）およびzfT2Rs（zfT2R5は忌避物質であるデナトニウムの受容体）はいずれもzfGnaia発現細胞にのみ発現しており、zfT1Rs、zfT2Rsを発現しないzfGnaia発現細胞も存在した（矢じり）。また、zfGnai14発現細胞にはzfT1RsおよびzfT2Rsのシグナルが観察されなかったことから、魚類の味蕾には、哺乳類には存在しない味細胞が少なくとも2種存在すること、いまだ同定されていないGPCRが味覚受容体として機能している可能性があることが示唆された。

哺乳類にはない味細胞種が少なくとも2種類存在することが示唆された(図1)。味細胞の細胞内情報伝達経路は脊椎動物において種を超えて保存されているが、各動物種が有する味細胞の種類は多様化している可能性が考えられる。

2. 味細胞を産出する幹細胞の同定

味蕾の細胞には数週間の寿命があり、絶えず新しい細胞に置き換わっている。このことは、味細胞を産出する幹細胞の存在を示唆しており、それは味蕾周辺の上皮組織基底層に分布していると予想されていた。Lineage tracing法により、舌後部の有郭乳頭の味蕾細胞はLgr5遺伝子を発現する幹細胞から産生されることが示されていたが、舌前部の茸状乳頭や口蓋に存在する味蕾細胞の幹細胞は同定されていなかった。筆者らは、様々な上皮系組織の幹細胞に発現していることが報告されていたSox2遺伝子に着目し、Sox2を発現する細胞が味蕾細胞の幹細胞であるか否か調べるため、Sox2-CreERT2ノックインマウスとRosa26-tdTomatoレポーターマウスを用いたlineage tracing解析を行い、Sox2発現細胞の系譜を解析した⁵⁾。その結果、タモキシフェンの投与によるレポーターの組換えを誘導して21カ月後のマウスにおいて、味蕾を含む口腔内上皮層のすべての細胞がtdTomatoを発現していた⁵⁾。味蕾細胞の寿命が1-3週間であることを考慮すると、この21カ月の間に味蕾細胞はターンオーバーによって何度も新たな細胞に置き換わっていると考えられるため、Sox2を発現する上皮細胞の一部が味蕾細胞を産出する幹細胞であることが示された。また、味蕾周辺の上皮の基底層や他の口腔内上皮に発現するKrt5のCreERT2ノックインマウスを用いた場合においても、タモキシフェンを投与して長期経過し

たマウスの口腔内上皮細胞のすべての細胞がtdTomatoを発現することを見出した⁶⁾。これらの研究で用いたSox2-CreERT2マウスやKrt5-CreERT2マウスは、味蕾に発現する遺伝子の分子遺伝学的解析に必要な組織特異的な遺伝子破壊マウスの作製を可能にする非常に有用な系統である。

3. 口腔内上皮系幹細胞におけるSox2の機能

Sox2を発現する上皮細胞の一部が味蕾細胞を産出する幹細胞であることが示されたが、幹細胞におけるSox2の機能については不明であった。筆者らは、Krt5-CreERT2マウスおよびSox2-floxマウスを用い、上皮系幹細胞においてSox2遺伝子の欠損が誘導されるマウスを作成し、幹細胞におけるSox2の機能解析を行った⁶⁾。タモキシフェンの投与によりSox2遺伝子の欠損誘導後の有郭乳頭の様子を観察したところ、投与後すぐに味蕾の形態の変化が観察され、味蕾細胞が減少し、投与2週間までに味蕾は消失した⁶⁾。この間、味蕾中の細胞の細胞死の亢進や味蕾周辺上皮の増殖細胞マーカーの減少は観察されなかった⁶⁾。次に、Sox2遺伝子の組換えが起こると同時にtdTomatoレポーターを発現するマウスを作成し、解析した。Sox2遺伝子が野生型の場合、tdTomatoを発現する味蕾細胞数が経時的に増加していった。一方、Sox2遺伝子を欠損したマウスを用いた場合、味蕾以外の上皮細胞はtdTomatoを発現していたが、味蕾中にtdTomatoを発現する細胞は観察されなかった⁶⁾。これらの結果から、Sox2を欠損した上皮系幹細胞から新たな味蕾細胞は供給されないことが示され、Sox2は幹細胞から味蕾細胞への分化に必要な因子であることが明らかとなった(図2)。

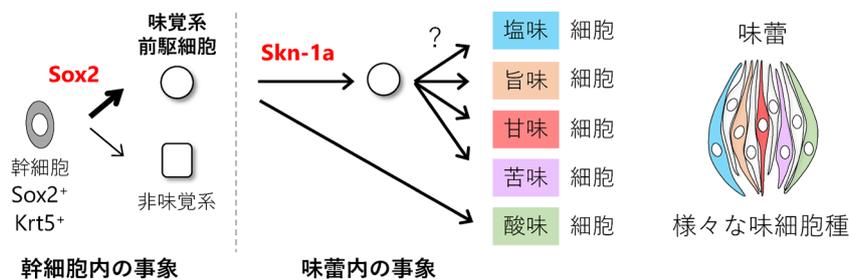


図2 様々な味細胞が産生される分子機構

味蕾細胞を産生する幹細胞はSox2やKrt5を発現し、Sox2は幹細胞において味蕾細胞系への分化に必要な因子であることが明らかとなった。また、Skn-1aノックアウトマウスの解析から、5つの基本味の受容に関与する味細胞は共通の前駆細胞から産生され、Skn-1aは前駆細胞において甘味、旨味、苦味、および塩味細胞への分化を決定づける因子であることが明らかとなった。しかし、Skn-1a系譜の4種の味細胞の細分化機構は依然として不明である。

4. 味細胞分化に関与する因子：Skn-1a (Pou2f3)

様々な細胞の発生や分化に転写因子が関わっているように、味細胞の発生や分化にも転写因子が関わっていると予想され、筆者らは、DNAマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、味蕾に特異的に発現する転写因子を探索した⁷⁾。その結果、Skn-1a (Pou2f3) が、甘味、旨味、苦味細胞および味蕾基底部に存在する細胞（味細胞の前駆細胞と考えられる）に特異的に発現していることを見出した⁸⁾。Skn-1aの機能を解析するために、ノックアウト (KO) マウスを作製して解析したところ、野生型マウスが示す甘味、旨味に対する嗜好行動および苦味に対する忌避行動がSkn-1a KOマウスでは観察されなかった⁸⁾。これらの解析から、Skn-1aが甘味、旨味、苦味を感じるのに必要な因子であることが明らかとなった。Skn-1a KOマウスの有郭乳頭の味蕾において甘味、旨味、苦味の受容・伝達に関与する遺伝子群の発現を調べたところ、甘味、旨味、苦味の受容体や細胞内情報伝達因子の発現が完全に消失していた。興味深いことに、Skn-1a KOマウスでは、酸味細胞数が増加しており、その数は野生型マウスにおける甘味、旨味、苦味細胞の総数とほぼ一致していた⁸⁾。このことから、Skn-1a KOマウスでは、甘味、旨味、苦味細胞が産出されず、代わりに酸味細胞が産出されることが示された。

近年、筆者らは、舌前方の茸状乳頭に存在するENaC α を発現する塩味細胞もSkn-1aを発現し、Skn-1a KOマウスでは、塩味に対する嗜好行動に関与する成分であるアミロライド感受性の神経応答が消失することや塩味細胞が産生されないことを見出し、Skn-1aは塩味細胞の産生にも関与していることが示された⁹⁾。以上の結果から、基本5味の受容に関与する味細胞は共通の前駆細胞から産生されること、Skn-1aは前駆細胞において甘味、旨味、苦味、および塩味細胞への分化を決定づける因子であることが示された (図2)。

5. 味細胞の細分化に関与する因子の探索

Skn-1aは甘味、旨味、苦味、塩味細胞への分化に必要であることが示されたもの、Skn-1a系譜の味細胞がどのようにして甘味、旨味、苦味、塩味細胞へと細分化するのかわかりません。筆者らは、Skn-1a系譜の各味細胞に特異的に発現する転写因子を探索し、それぞれの味細胞への機能分化の分子機構の解明を試みている。その過程で、味蕾や味細胞のトランスクリプトームデータの解析とin situハイブリダイゼーションによる発現解

析を行った結果、転写因子Eyalが苦味細胞に特異的に発現していることを見出した¹⁰⁾。興味深いことに、Eyalの発現はSkn-1a KOマウスの味蕾では観察されず、T2RsやTRPM5などを発現しないSkn-1a発現細胞に観察された¹⁰⁾。これらのことから、EyalはSkn-1a系譜の味細胞において分化段階の早い時期から発現を開始していることが示唆され、味細胞の分化に関与している可能性が高いと考えられる。現在、Eyalの味細胞分化における機能の解析を進めている。

考 察

日常の食事において、様々な味を感じることができるのは、様々な味細胞が味蕾の中に一定の割合で存在するためである。筆者らは、味細胞の分化に必要な因子を同定することなどにより、様々な味を感じる仕組みを理解することを試みてきたが、未だ解決すべき課題も多い。特に、Skn-1aによって規定される甘味、旨味、苦味、塩味の4種類の味細胞がどのようにしてそれぞれの味細胞へと細分化していくのか解明することが今後の課題である。

味を感じることができず、味の無い食事をすることは苦痛であり、それが続くと、食欲が著しく減退し、食事が減り、健康状態の悪化へと繋がる。味覚は豊かな食生活を送る上で非常に重要な要素であると同時に、健康の維持や回復のためにも必要であり、味覚は健康と密接に関係している。多様な味細胞の発生や分化の機構を明らかにすることにより、病気やその治療の過程で起きる味覚障害が生じる仕組みやその予防法や治療法の確立に役立つことが期待される。

要 約

食品中の化学物質が口腔内上皮層に分布する味蕾中の味細胞により受容され、その情報が中枢に伝達されることによって様々な味覚が生じる。筆者は、味覚の多様性や恒常性を理解するために、脊椎動物の味覚を対象とした分子生物学的・分子遺伝学的研究を行ってきた。その結果、動物が生育環境に合わせて独自の味覚を有している可能性の提示や味細胞を産生する幹細胞の分子基盤の取得と味細胞の多様性を生み出す分子機構の解明などの研究成果を得てきた。これらの研究により得られた知見は、味覚の基礎研究結果として重要であるだけでなく、今後の摂食感覚研究および食品開発研究などにおいて、新たな展開へと発展する可能性に繋がるものである。

謝 辞

この度、第11回三島海雲学術賞（自然科学部門）の栄誉を賜り、選出していただきました選考委員の各先生方および三島海雲記念財団の関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。また、本賞への応募に推薦していただきました日本味と匂学会会長の吉原良浩先生にも御礼申し上げます。本研究は、東京大学、Monell Chemical Senses Center、東京工業大学にて行われました。特に、Monell Chemical Senses Centerの松本一朗先生には、これまでの研究生生活のほとんどにおいて多大なるご指導を頂きましたことを厚く御礼申し上げます。また、研究を進めるにあたり、多大なるご指導を頂きました東京大学大学院農学生命科学研究科の阿部啓子先生、理化学研

究所脳神経科学研究センターの吉原良浩先生、東京工業大学生命理工学院の廣田順二先生をはじめ、研究を一緒に進めてきた多くの方々に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) D. A. Yarmolinsky, et al.: *Cell*, **139**, 234–244, 2009.
- 2) J. Chandrashekar, et al.: *Nature*, **464**, 297–301, 2010.
- 3) Y. H. Tu, et al.: *Science*, **359**, 1047–1050, 2018.
- 4) M. Ohmoto, et al.: *J. Comp. Neurol.*, **519**, 1616–1629, 2011.
- 5) M. Ohmoto, et al.: *Chem. Senses*, **42**, 547–552, 2017.
- 6) M. Ohmoto, et al.: *PLoS One*, **15**, e0240848, 2020.
- 7) M. Ohmoto, et al.: *Chem. Senses*, **31**, 739–746, 2006.
- 8) I. Matsumoto, et al.: *Nat. Neurosci.*, **14**, 685–687, 2011.
- 9) M. Ohmoto, et al.: *eNeuro*, **7**(6), 2020.
- 10) M. Ohmoto, et al.: *Cell Tissue Res.*, **383**, 979–986, 2021.

著者紹介



應本 真 (オウモト マコト)

1978年 岡山県生まれ
 2001年3月 東京大学農学部卒業
 2006年3月 東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程修了
 2006年3月 博士（農学）の学位取得（東京大学）
 2006年8月 東京大学大学院農学生命科学研究科特任助教
 2011年9月 Monell Chemical Senses Center, Postdoctoral Fellow
 2018年7月 東京工業大学バイオ研究基盤支援総合センター特任講師
 2021年9月 高崎健康福祉大学健康福祉学部健康栄養学科講師

専門分野：味覚、食品機能学
 様々な味が受容・認識される仕組みを理解することにより、いつまでも「おいしく」食事ができるような生活基盤の構築に貢献したい。