

## 異なるうま味成分によるアクアポリン5活性化制御機構の解明

柿原 嘉人

新潟大学大学院医歯学総合研究科歯科薬理学分野

【目的】本研究の目的は、異なるうま味成分がどのように唾液分泌因子であるアクアポリン5を活性化するか分子レベルで解明し、さらに、アクアポリン5の新規制御因子を同定することで、うま味-アクアポリン5パスウェイを明らかにすることである。

【内容】より良くうま味を感じるには、十分な唾液の分泌が必要である。逆に言うと、口腔内が乾燥するとおいしいものもおいしく食べられない。うま味と唾液分泌に関する笹野らの一連の研究により、うま味成分は、唾液分泌を促進し、唾液分泌の促進は、味覚障害を改善するということが明らかになっている (Sasano, T., et al. Flavour, 2015) (Shoji, N., et al. Oral Dis. 2015)。うま味成分によって味細胞のレセプターである T1R1 と T1R3 の発現が亢進することが分かっているが、どのようにして唾液分泌が促進されるのか未解明である。そこで、本申請研究では、唾液腺と味細胞の唾液分泌重要因子であるアクアポリン5に着目し、うま味成分がどのような機構でアクアポリン5を活性化するか分子レベルで解明する。

【結果】本研究では、まず、口腔内の唾液分泌に重要な役割を担う耳下腺を対象として、ヒト耳下腺由来培養細胞である SMAP1 細胞を用いて AQP5 が実際に発現しているのか検討した。ウェスタンブロッティング法で AQP5 のタンパク質発現を認め、免疫染色法で AQP5 が核と細胞質に存在することが明らかとなった。

これまでに AQP5 の制御機構については、カルシウムイオンが重要な役割を担っていることが示唆されており、細胞内のカルシウムイオン濃度の上昇によって小胞上の AQP5 がリン酸化され、細胞膜上に運ばれることが明らかにされている。さらに新たな知見を得るため、カルシウム濃度変化に対する AQP5 タンパク質の発現量の変化について検討した。その結果、発現量は、CaCl<sub>2</sub> 濃度 2 mM から徐々に低下し、5 mM では顕著に低下した。細胞外のカルシウム濃度依存的に AQP5 の発現が変化することが示唆された。

AQP5 の細胞内の局在を免疫染色にて観察したところ、2mM カルシウム濃度において、細胞質内に小さなベジクルが検出されたことから、カルシウム濃度の上昇によって AQP5 の細胞膜へのトランスロケーションが促進されたことが示唆された。うま味成分であるグルタミン酸ナトリウムが、AQP5 の細胞内挙動に対してどのような影響を与えるか検討したところ、2mM カルシウム存在下において、グルタミン酸ナトリウム添加による AQP5 への発現の影響は見られなかった。また、グルタミン酸ナトリウムによる AQP5 の局在変化に対する影響を検討したところ、2mM カルシウム存在下で、10mM のグルタミン酸を添加したところ、より多くの小胞が観察された。さらに、細胞抽出液の分画実験によって 10 mM グルタミン酸ナトリウム存在下では、核内のタンパク質量はやや減少した一方で、細胞質、細胞膜における AQP5 タンパク質レベルの増加が観察された。以上の結果から、グルタミン酸ナトリウムは、AQP5 の小胞形成を促進し細胞膜へのトランスロケーションを促進していることが示唆された。

次に、舌表面に存在する味細胞におけるアクアポリンの解析を行った。過去にラットの味細胞における AQP5 の発現を組織染色によって示した論文があったため、いくつかの抗体を用いて検討を行ってきたが、検出するに至らなかったため、異なるアクアポリンの検討を行った。その結果、AQP9 が味細胞に発現していることがラットの舌の組織染色によって明らかとなった。さらに、0.4%グルタミン酸ナトリウム水溶液を 2 週間投与後に、味細胞における AQP9 の発現の上昇が見られたことから、うま味刺激によって味細胞から唾液成分である水分が放出する可能性が示唆された。これまでに、AQP9 は、肝臓、精巣などに発現していることは知られていたが、本助成研究によって口腔内の味細胞に存在し、その発現がうま味刺激に応答していることが新規に明らかとなった。