

特集：刺激受容における相互作用の発現機構のメカニズム

脊椎動物の味細胞応答の GMP による修飾*

宮本 武典・佐藤 俊英**

(長崎大学・歯学部・口腔生理学講座)

1. はじめに

味応答は様々な物質によって修飾されることが知られている。たとえば、ヒトではグルタミン酸ナトリウム (MSG) の応答が特に著しく 5'-ヌクレオチドによって増強されるので¹⁾、これらはうま味物質として一括されている。ラットやマウス、イヌでも 5'-ヌクレオチドによってアミノ酸応答が著しく増強される²⁻⁴⁾。また、マウスでは甘味物質の内、D 型アミノ酸だけがサッカリンによって増強される⁵⁾。しかし、これらの研究はすべて味神経応答の解析から得られたものであり、味応答とこれらの修飾物質との相互作用が、味覚トランスダクションのどの段階で生じているのかは、推測の域を出ない。我々は本研究において、味細胞レベルでの味応答と修飾物質、特に GMP およびサッカリンとの相互作用を検討した。

2. カエル塩応答に対する GMP の抑制作用

ウシガエルの味応答では MSG 応答自体が微弱であり、GMP による増強は見られない。一方、我々はウシガエルにおいて、塩に対する応答の持続性コンポーネントが GMP によって極めて強く抑制されることを報告した⁶⁾。GMP による抑制効果は、舌表面を低 NaCl (5 mM) のリンガー液で順応した時のみ観察された。微小電極法を用いた予備的な実験において、NaCl 刺激により誘発された受容器電位は

GMP によっては影響を受けなかった。しかしながら、微小電極法による受容器電位の記録時と味神経応答の記録時では刺激液や順応液の流速などが大きく異なるので、味神経応答の持続性コンポーネントに対して受容器電位が全く関与していないと言えないだろう。

3. マウス味細胞の甘味応答の記録法とその修飾

糖応答のような高濃度の味刺激に対する味応答を *in vitro* の標本を用いてパッチクランプ法で記録するためには、味受容膜部分だけを刺激することが望ましい。味神経応答の記録時には、味細胞の基底外側膜は味刺激に曝されることはない。味受容膜だけを局所的に味刺激するためには、生体内の環境をできるだけ保持することが必要である。単離味細胞の全体を味刺激する時に生じる諸問題は、味細胞を単離せずに周辺に上皮の小片を有する茸状乳頭味蕾標本を用いることにより解消した。方法の詳細については、Miyamoto et al. (1996)⁷⁾ において報告した。

パッチ電極に蛍光色素ルシファーイエローを充填することにより、記録された細胞の形状を視覚化することが出来た。記録された細胞が味細胞であるかどうかは、その電気的興奮性と細胞の形状から判定した。

4. マウス味細胞の甘味応答とその修飾

甘味応答のトランスダクションには、2つの経路

*平成8年6月2日受付

Modification of vertebrate taste cell responses by GMP.

**Takenori Miyamoto and Toshihide Sato: Department of Physiology, Nagasaki University School of Dentistry, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki 852 Japan

(Sweet Transduction)

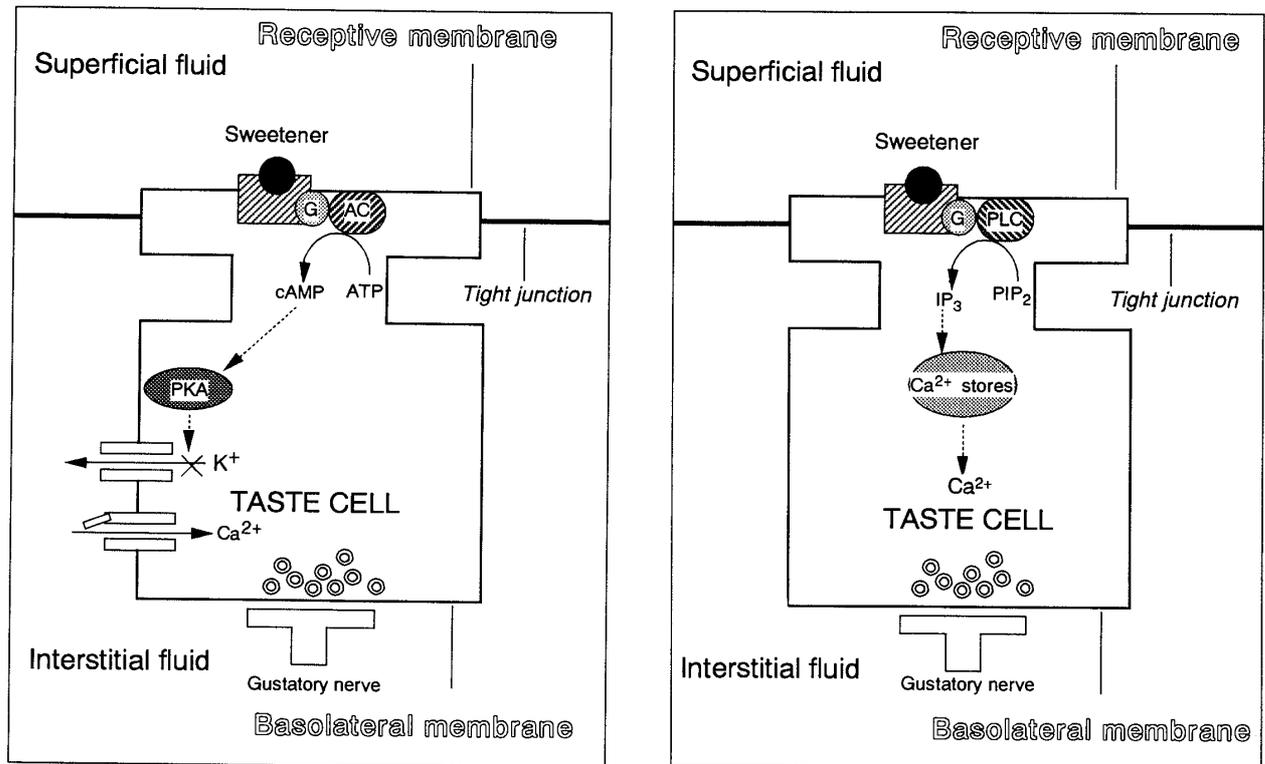


図1 甘味刺激変換機構の2つの経路

が提唱されている(図1)。一つの経路では、甘味物質が味受容膜上の受容体に結合するとG蛋白質を活性化しアデニル酸シクラーゼを介してcAMPが産生される。これによって活性化された蛋白キナーゼAが、 K^+ チャネルを燐酸化によって遮断することにより脱分極が生じる⁸⁾。もう一つの経路では、甘味物質-受容体複合体が味細胞のホスホリパーゼCを活性化して IP_3 の産生を促し、これによって細胞内の Ca^{2+} 濃度の上昇が誘起される⁹⁾。前者では、味細胞の脱分極によって開口する電位依存性 Ca^{2+} チャネルからの細胞内への Ca^{2+} 流入が伝達物質放出の引き金となる。後者では、味細胞膜の脱分極を伴うことなく伝達物質が放出される。しかし、味細胞に Ca^{2+} 依存性の K^+ チャネルや Cl^- チャネルが存在するなら過分極が、カチオンチャネルが存在するなら脱分極が二次的に観察されるであろう。

上記の方法を用いて、パッチクランプ法では初めてショ糖刺激に対する味細胞味受容膜の応答を記録することができた。しかしながら、糖応答を示す味細胞は非常に少数であり、ショ糖(0.5 M)に対する脱分極性応答は20%以下で、しかも応答値はいずれ

も5 mV以下の微弱なものであった。ショ糖に対する応答は、GMP(0.5 mM)によって可逆的に増強される場合があり、その効果は一過性であった。応答確率の低さは、アンホテリシンB(240 μ g/ml)を用いた穿孔性パッチ法によっても改善されなかった。ハムスターでも同様に低い応答確率が報告されている⁸⁾。微小電極法による研究において、50%以上の味細胞の脱分極応答が報告されているのは大きく異なる^{10,11)}。

一方、D-フェニルアラニン(D-phe, 0.1 M)に対する脱分極性応答は現時点では観察できなかったが、過分極性の応答を示す細胞が観察された。この過分極性応答はGMP(0.5 mM)によってもサッカリン(20 mM)によっても可逆的に増強された。また、その作用時間も一過性であり、増強効果は刺激終了と共に消失した。

5. マウス味細胞のMSG応答とGMPの作用

マウスではMSG(30 mM)に対する応答が、鼓索神経においても舌咽神経においてもGMPによって

脊椎動物の味細胞応答のGMPによる修飾

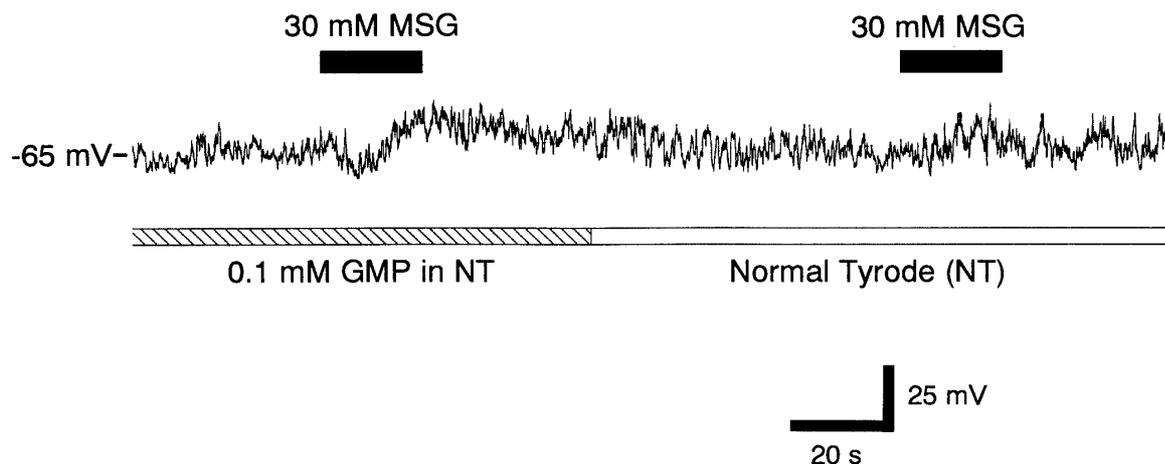


図2 GMPによるMSG応答の増強効果

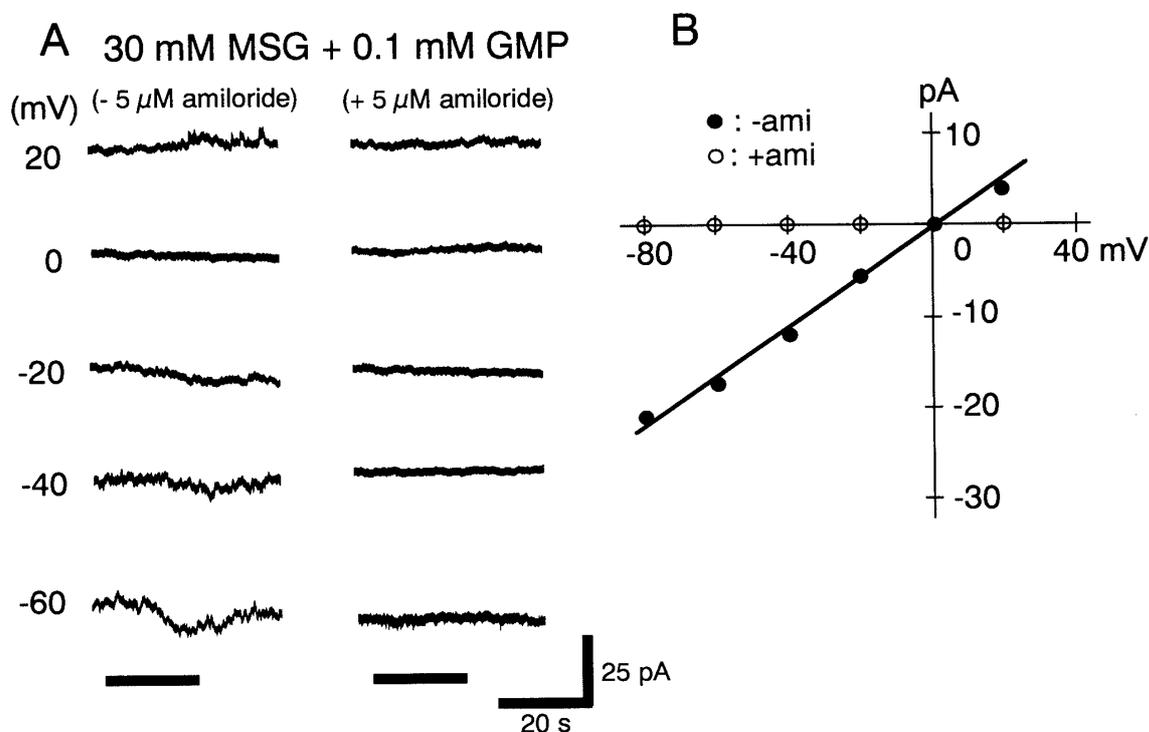


図3 GMPによって増強されたMSG応答の電流電圧関係とアミロライドによる抑制

著しく増強されることが知られている³⁾。今回、茸状乳頭からの味細胞においても GMP (0.1 mM) による MSG 応答の増強が観察された。この増強は、MSG 刺激終了後も数 10 秒間持続した(図 2)。これは、上述の GMP やサッカリンによる D-phe 応答の増強の場合とは相違する。GMP によって増強された MSG に対する電流応答の電流電圧関係を図 3 に示す。この応答の逆転電位は 0 mV であったので、非選択性のカチオンチャンネルを介する可能性を示唆する。驚くべきことに、この応答は塩応答の抑制剤で

あるアミロライド (5 μ M) で完全に抑制された。

6. 考察

以上の結果は、GMP による味細胞応答の修飾作用には(1)種差が存在すること、(2)複数の経路および作用機序が存在することを示唆する。(1)に関しては、味覚応答全般に共通する問題である。味覚応答そのものがそれぞれの種に特有の食性や生活環境に密接に結びついているためであろう。マウス味細胞の MSG 応答に対する GMP の作用は、D-phe 応答に

対する GMP の作用より著しく長い持続時間を示した。本実験では味刺激はすべて味受容膜だけに局限して短時間に投与したので、味受容部位での相互作用であれば効果は GMP による D-phe の増強に見られたように一過性である。しかし、今回観察された GMP による MSG の増強作用は、刺激終了後も数 10 秒間続いた。逆転電位が 0 mV であったことから、非選択性のカチオンチャンネルを介した応答であろう。アミロライド感受性の非選択性カチオンチャンネルは呼吸上皮細胞などに存在し、その活性は細胞内の Ca^{2+} や cAMP によって増強されることが知られている¹²⁾。従って、本実験で得られた結果は GMP と MSG の相互作用が受容サイトだけではなく、細胞内伝達系を介しても生じることを示唆する。D-phe のサッカリンによる増強も一過性であった。それ故に、これは受容サイトでの相互作用であると考えられる。しかしながら、本実験では味刺激は味受容膜に局所的に投与されたが、GMP やサッカリンは灌流液中に投与された。したがって、GMP の作用点は明らかではない。味刺激液だけでなく修飾物質も味受容膜に局限して投与し、できるだけ生体内に近い状態での応答を記録することが今後の課題である。

7. 謝辞

GMP の一部をご供与下さった味の素 (株) に謝意を表する。

参考文献

- 1) Kuninaka A : Recent studies of 5'-nucleotides as new flavour enhancers. In Flavor Chemistry (Gould RF ed.), American Chemical Society, Washington DC, pp. 261-274 (1966)
- 2) Yoshii K, Yokouchi C and Kurihara K : Synergistic effect of 5'-nucleotides on rat taste responses to various amino acids. *Brain Res.* 367, 45-51 (1986)
- 3) Ninomiya Y and Funakoshi M : Qualitative discrimination among "umami" and the four basic taste substances in mice. In Umami : A Basic Taste (Kawamura Y and Kare MR eds.), Marcel Dekker, New York, pp.365-385 (1987)
- 4) Kumazawa T and Kurihara K : Large synergism between monosodium glutamate and 5'-nucleotides in canine taste nerve responses. *Am. J. Physiol.* 259, R420-R426 (1990)
- 5) Ninomiya Y and Kajiura H : Enhancement of murine gustatory neural responses to D-amino acids by saccharin. *Brain Res.* 626, 287-294 (1993)
- 6) Miyamoto T, Okada Y and Sato T : Inhibition of salt-induced gustatory responses in the frog (*Rana catesbeiana*) by 5'-GMP. *Brain Res.* 629, 345-348 (1993)
- 7) Miyamoto T, Miyazaki T, Okada Y and Sato T : Whole-cell recording from non-dissociated taste cells in mouse taste bud. *J. Neurosci. Meth.* 64, 245-252 (1996)
- 8) Cummings TA, Daniels C and Kinnamon SC : Sweet taste transduction in hamster : Sweeteners and cyclic nucleotides depolarize taste cells by reducing a K^+ current. *J. Neurophysiol.* 75, 1256-1263 (1996)
- 9) Bernhardt SJ, Naim M, Zehavi U and Lindemann B : Changes in IP_3 and cytosolic Ca^{2+} in response to sugars and non-sugar sweeteners in transduction of sweet taste in the rat. *J. Physiol.* 490, 325-336 (1996)
- 10) Sato T and Beidler LM : Dependence of gustatory neural response on depolarizing and hyperpolarizing receptor potentials of taste cells in the rat. *Comp. Biochem. Physiol.* 75A, 131-137 (1983)
- 11) Tonosaki K and Funakoshi M : Intracellular taste cell responses of mouse. *Comp. Biochem. Physiol.* 78A, 651-656 (1983).
- 12) Nakahari T and Marunaka Y : Regulation of whole cell currents by cytosolic cAMP, Ca^{2+} , and Cl^- in rat fetal distal lung epithelium. *Am J. Physiol.* 269, C156-C162 (1995)