

《日本農芸化学会賞》

味覚に関する分子生物学的・食品科学的研究



東京大学大学院農学生命科学研究科 教授 阿部 啓子

生物は多様な外来シグナルを瞬時に束一的な内生シグナルに変換し、それによって行動を律し、生きる。そこには必ず感覚系という生命機構が存在する。その中で、味の感覚すなわち味覚は、動物の摂食行動を直接左右するのみならず、食文化の基軸となり、食品工業の基盤となる重要な感覚である。生物学・人間科学・産業科学の分野から大きな関心が寄せられる所以である。

味覚の先端的研究は、分子・細胞生物学やゲノミクスの進歩に呼応して、そして2004年に匂いの感覚（嗅覚）がノーベル賞の対象となったのをきっかけに、国際的に急激な発展をみせ始めた。私は、味という外来シグナルの受容がGタンパク質共役レセプター（GPCR）によって行われることを発表した1993年から、本格的にこの道へ入った。その中で私は、味覚の研究に生体側からの視点（分子生物学）と物質側からの視点（食品科学）を連動させ、農芸化学が謳う“化学と生物の融合”と“基礎から応用までの一貫研究”の道を志した。

具体的には、味覚という内生シグナルの生体内での流れに準じて①味蕾細胞内味覚シグナリング、②その脊椎動物普遍性、③シグナルの味神経・中枢伝導に関する生体科学的研究と、④味覚の相互作用に関する物質科学的研究を行った。これは①～③の“物証”を得るための研究で、昔から言われながら実態が未解明であった異なる味同士（例えば酸味と甘味）の相互作用を、熱帯食用植物果実から分離した味覚修飾（酸っぱいものを甘くする）タンパク質（ネオクリンと命名）とヒト甘味レセプターの結合モデリングを例に、一般論として説明する初めての研究である。これには、私たちが発見した植物性システインプロテアーゼ・インヒビター第1号であるオリザシスタチンとその系列の研究手法と経験が大きく貢献した。

以下に①→②→③→④の順に成果の概要を記す。

1. 味蕾細胞内味覚シグナリングの解析

味蕾の味細胞に存在する味覚レセプター GPCR には T1R と T2R の 2 系列のあることがアメリカのグループから報告された。味物質がこれらによって受容されて発生するシグナルは、その下流に存在する G タンパク質、エフェクター、第 2 メッセージャーを作動させて味細胞を興奮（脱分極）させ、シナプスする味神経に伝導されるが、そこには多様な分子群が存在するはずである。私たちはこれらをラットで系統的に解析した。その結果、甘味・旨味を受容する T1R 系を発現する味細胞と苦味を受容する T2R 系を発現する味細胞とがそれぞれ独立に存在すること、にもかかわらず両者に共通して G タンパク質 Gai2、エフェクター PL（ホスホリパーゼ）Cβ2、第 2 メッセージャー IP₃（イノシトール三リン酸）レセプター IP₃R3 が高度に発現していることを見だし、それによって上昇した細胞内 Ca²⁺ 濃度が TRP（トランジェントレセプターポテンシャル）M5 チャネルの開口を促して脱分極に至ることを推定した。以

上、外来の複雑な味のシグナルは内生の単純な味覚シグナルへと束一化された上で細胞内伝達される実態を明らかにした。この研究の過程で、PI ターンオーバー系の存在、TRPM5 活性化にかかわるアラキドン酸カスケード因子 PLA2IIA、MGL（モノグリセロールリパーゼ）、COX2（シクロオキシゲナーゼ 2）の存在、脱分極復元カスケード因子 KCN（電位依存性カリウムチャンネル）Q1 および H2 の発現を初めて明らかにした。なお、この一連の研究の途上で、今まで成功例のなかった味蕾細胞の初代培養を達成し、上記のシグナリングが培養細胞系でも *in vivo* 同様に作動していることを確認した。これは近い将来、ほぼ忠実に生体機序を反映する味覚センサーとして利用されるようになる。

2. 味覚シグナリングの脊椎動物普遍性の検証

脊椎動物における生命機序の普遍性を究明するには、まず哺乳類とその遠縁の種である魚類との間の相同性を調べることがよいとされる。私たちは、世界的に認知されたモデル魚であるメダカとゼブラフィッシュを用いて味覚レセプターを解析した結果、T1R 系と T2R 系はそれぞれ独立に細胞発現していること、哺乳類と同様に前者では T1R1、T1R2、T1R3 の 3 類型が、後者では複数種が存在すること、しかし詳しくみると T1R1 と T1R3 では魚類と哺乳類の間で相同性が高い反面、T1R2 では両動物間で相同性が低いことを見出した。これを分子受容と摂食行動の関連で検証すると、甘味を強く嗜好する哺乳類では T1R2-T1R3（ヘテロダイマー）が甘味レセプターとして機能するのに対し、甘味を全く嗜好しない魚類ではそれが機能せず、逆に、アミノ酸味を強く嗜好する魚類では T1R1-T1R3 および T1R2-T1R3 の両者とも特有のアミノ酸レセプターとして機能していることになり、それぞれ食物環境・栄養代謝に依存した分子進化を遂げていることが判明した。また、T2R 系は魚類でも哺乳類と同様に機能し、苦味を忌避した。レセプターの下流に存在する分子群についても同様で、PLCβ2 が関与する PI ターンオーバー系を経て TRPM5 チャネルに至る味覚シグナリングは魚類でも中心的役割を演じていることが強く示唆された。そこで PLCβ2 転写調節領域を用いた変異体を作成し、分子受容・摂食行動相関を観察した。その結果、T1R 系・T2R 系共役 G タンパク質ドミナントネガティブ変異体はアミノ酸嗜好と苦味忌避の峻別能力を欠損していることがわかり、味覚シグナリングは魚類から哺乳類まで、おそらく脊椎動物一般に、基本的には共通であり、“モデル動物からヒトを知る”生物学の定石の一例を提示し得たと思っている。なお、モデル魚を使うことのメリットは、味物質を食べる（好き）食べない（嫌い）が簡単に観察されるばかりでなく、食べた量が正確に計測されることにある。私たちは、この計測のために味物質の種類と含有量を調節し、しかも水面に浮く独創的な蛍光標識人工餌を調製した。消化管の蛍光強度を測定すれば摂食量がわかるの

で汎用性もあり、味覚嗜好性と分子機能の解析を行うためのユニークな評価系を開発し、使用してこれらのデータを得た。

3. シグナルの味神経・中枢伝導のゲノミクス

哺乳類の場合、味蕾（入口）からのシグナルは前記のプロセスを経て味神経伝導路（中継）へ送られ、中枢（出口）でその快（好き）・不快（嫌い）が認知・判別される。が、神経細胞の分子レベルでの解明は未踏の領野であった。そこで私は、ラット味神経を含む舌咽神経と鼓索神経（甘・酸・塩・苦・旨味の感覚を伝える）に味神経を含まない体性感覚神経系の三叉神経（痛覚、温覚、辛味感覚などを伝える）と迷走神経を加え、それぞれの神経節で平常時（味刺激前）に発現している遺伝子群をDNA マイクロアレイ法によって網羅的に解析し、神経細胞を特徴づけるトランスクリプト発現プロファイルをマッピングすることに初めて成功した。さらに、この手法をPbN（中枢“橋”）に適用して味覚伝導に関わる神経細胞を特定する分子マーカーを発見し、PbN固有の味覚分子情報を集積した。同時に、経シナプストレーサーであるWGA（コムギ胚芽レクチン）を甘味および旨味細胞に導入・発現したトランスジェニックマウスを作出し、この味覚の伝導路を担う神経節・NST（延髄弧束核）の細胞を可視化し、味覚コーディング解明への端緒を拓いた。この研究は、例えば甘・旨・苦味の伝導路としてそれぞれ別々に入口から出口へ至る一連の経路（味細胞→味神経→中枢）が存在することを仮定する“labeled line theory”の実証に寄与し、センサリー・システム・バイオロジーの構築にもつながる。

4. 味覚の相互作用の物質科学的解析

食品には味と味の相互作用（合わせ味）がある。Aという味（例えば甘味）とBという味（例えば酸味）を合わせるとAはBを弱め、BはAを強める事象は多々知られてはいるものの、その実態を味覚レセプターのレベルで分子論的に解析した例は皆無であった。私たちは、マレーシアに野生する *Curculigo latifolia* から発見し、精製し、構造決定した新しい甘味タンパク質ネオクリン(neoculin)に、酸味（例えばクエン酸の味）を減弱し、甘味をスクロースの500倍にまで増強する味覚修飾活性があることに着目し、これを味の相互作用解明のモデル物質として使用した。ネオクリンの構造は糖鎖を付加した酸性サブユニット(NAS)と塩基性サブユニット(NBS)のヘテロダイマーであった。麹菌を宿主とする発現生産系を樹立し、野生型の活性体を分泌させることにも成功した。興味深いことに、ネオクリンの甘味は、類似の味覚修飾タンパク質であるミラクリンと同様、ヒトでのみ検知される。そこで、ヒト甘味レセプターhT1R2-hT1R3とキメラGαタンパク質を培養細胞HEKで共発現させ、シグナリング系を構築したうえで、カルシウム・イメージング法によって計測した。ネオクリンをリガンドとして加えたところ、リガンド依存的に細胞内Ca²⁺濃度が上昇した。ヒト味蕾の甘味細胞（前記）をシミュレートしたこの培養系を用いて、hT1R2-hT1R3阻害剤ラクチゾール処理がネオクリンの受容を阻害することを見だし、酸味により甘味が強くなる味覚修飾活性の測定を可能にするるとともに官能検査と同等のデータを客観的に得ることに成功した。次にこの系を用いてネオクリンの活性のpH依存性を調べたところ、ヒスチジン残基の関与が強く示唆された。そこでX線結晶構造を解析した結果、五つのヒスチジン残基は表面に露出していてそのpK（約

6)でH⁺をトラップし、ネオクリン自身が構造変化すると推定した(下図)。甘味増強に関しては、ネオクリンの結晶構造に基づいてhT1R2-hT1R3とのドッキングのpH依存性を分子動力学シミュレーションによって解析した。その結果、中性条件下ではNASとNBSが近接して“closed”状態であるが、酸性条件下では両サブユニットが互いに反発して“open”状態となってレセプターと結合しやすくなり、よって甘味を増強すると推定された。これは平衡状態にあるので甘味強度のpH依存的变化は可逆的である。上記の推論を裏づけるため、ヒスチジンをアラニンに変換したネオクリン変異体を作製したところ、予想どおりpHに関係なく強い甘味を呈し、またhT1R2-hT1R3を結合することを確認した。こうして酸味物質が甘味物質の甘味強度を増大する“味の相互作用”を分子レベルで表現することができた。これは、ミラクリンにも適用される普遍性をもつ。なお、分子進化の観点からはネオクリンは植物マンノースレクチンから派生したことがアミノ酸配列から予想されたが、赤血球凝集活性は消失しており、またCaco2細胞への影響をDNAマイクロアレイ法で検討したところ、ほとんど遺伝子発現変動を示さないことから安全と評価でき、無カロリーの新しい機能性食品素材となりうる。応用への夢が広がっている。

ライフサイエンスの先端課題として国際的に急浮上してきた味覚科学を分子生物学的のみならず食品科学的に研究してきた成果が、今回、受賞の対象として評価されたことをたいへんに喜んでおります。この成果は、東京大学大学院農学生命科学研究科生物機能開発化学研究室および機能性食品ゲノミクス研究室に在籍するすべての教職員・研究員・学生・そして多くの卒業生たちの協力の結晶であり、学内・学外の大勢の方々からのご助言・ご支援の賜物であります。ここに厚く御礼申し上げます。最後に、味覚研究にお導きくださり、終始ご指導・ご鞭撻を賜りました荒井綜一先生に心より感謝いたします。

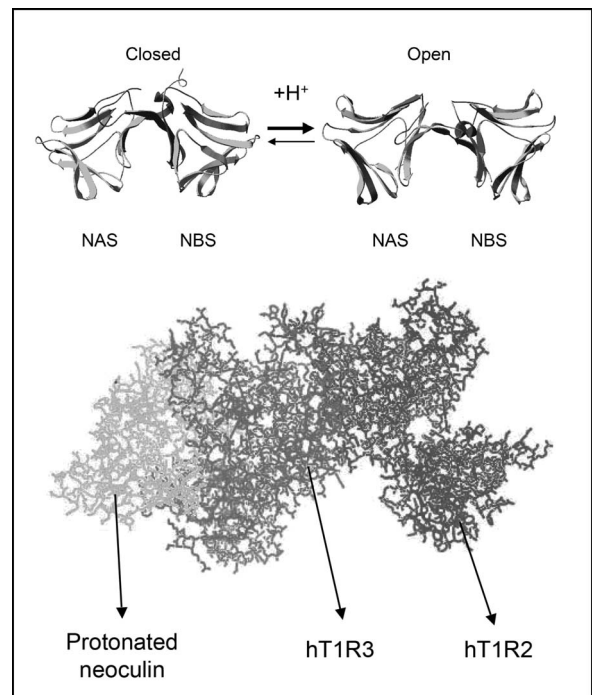


図 1