



小型実験魚類を用いた脊椎動物味覚伝導の普遍性の解明

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻 助教 岡田 晋治

はじめに

食は生命と健康の源である。生物は食物として外界から生命活動に必須の栄養素を取り込んでいる。外界には体に害になる物質も存在しており、食物を取り込むべきか否かの最終判断は味覚という化学感覚が担っている。味覚は、食物中の呈味性化合物(味物質)の受容、情報の神経伝達、および中枢における認識、という一連の機構を経て生じる。脊椎動物では口腔や咽頭などの上皮層に存在する味蕾という器官で味物質が受容され、味蕾に投射する神経(味神経)を介して中枢へと情報が伝達される。

脊椎動物の味覚システムの研究は主にマウスやラットといったげっ歯類をモデル動物として進められており、一定の成果が上がっているが、他の生物種についての知見は少ない。一方、他の研究分野では、メダカやゼブラフィッシュなどの小型魚類が脊椎動物のモデルとして解析に広く用いられ、成果を上げている。小型魚類はげっ歯類に比べいくつもの長所をもち、各分野の研究にブレイクスルーをもたらした。しかし、味覚システム研究においては、分子細胞生物学的な研究が進んでいないこと、げっ歯類で確立されているような味覚変化の行動生理学的解析手法がないことなどの理由から小型魚類は解析にほとんど利用されていない。

われわれは、小型魚類を用いた新たなアプローチからの解析を行い、味覚システム研究のブレイクスルーを目指してきた。現在までに、①小型魚類の味覚システムの分子細胞生物学的な解析を進め、研究モデルとしての基盤的知見を集積すること、②味覚応答の行動生理学的解析手法を開発すること、という基盤的な研究を経て、③小型魚類を味覚情報伝達・処理を担う神経回路の解析に適用し、成果を得た。

1. 小型魚類における味覚情報シグナル伝達分子の同定と機能解析

味覚受容体をはじめ、味覚受容細胞でのシグナル伝達を担う分子機構は、近年、マウス、ラット、ヒトでは解明が進んできたが、他の生物種での知見は少なかった。そこで、小型魚類での解明を進めた。

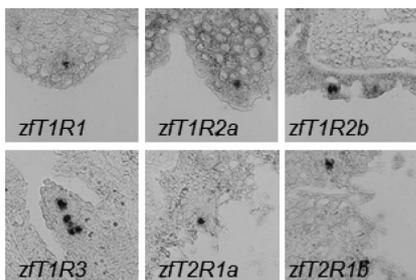


図1 ゼブラフィッシュ味蕾にはT1R, T2Rの二つの味覚受容体ファミリー遺伝子が発現

まず、T1RとT2Rという二つの味覚受容体ファミリーがマウス、ラット、ヒトと同様に味蕾細胞に発現することを見いだした(図1, *Mech. Dev.*, 2005)。これは味覚受容体発現に関する哺乳類以外で初めての知見であった。さらに、味覚受容体からの細胞内シグナル伝達を担うGタンパク質、脱分極チャネルを同定し、これら味覚情報シグナル伝達分子の小型魚類味蕾における発現相関を明らかにした。

続いて、同定した味覚受容体T1Rs, T2Rsについてヘテロ発現系を用いて機能解析を行い、これら受容体の受容特性を明らかにした(図2, *J. Neurosci.*, 2007)。哺乳類T1Rsが甘味(糖)と旨味(アミノ酸)の受容体として機能するのに対し、魚類T1Rsは糖には応答せず、特性の異なる複数の旨味(アミノ酸)受容体を構成することを示した。魚類は糖の代わりにアミノ酸をエネルギー生産に用いていることから、生息環境によって味物質に違いがあるものの、脊椎動物においてT1Rは食物中のエネルギー源とタンパク質源のセンサーとして働くという基本原理を提示した。また、T2Rは哺乳類、魚類ともに苦味受容体として機能することを示した。さらに、上述の発現相関解析、後述2の味覚応答解析の結果を合わせ、T1Rs発現細胞の応答は食物への嗜好性を、T2Rs発現細胞の応答は忌避性を規定する、つまり、味物質への嗜好・忌避行動は末梢の味蕾細胞レベルで規定される、という機構が哺乳類から魚類まで保存されている脊椎動物の共通原理であることを示した。

以上のように、脊椎動物における味覚受容の分子細胞機構の共通原理を示した。これらの結果は、小型魚類を味覚システム研究に利用するうえで基盤となる知見である。

2. 小型魚類における味覚応答の行動生理学的解析系の開発

ある味物質を嗜好するか忌避するかという行動生理について、げっ歯類などの陸棲生物では、味物質の水溶液を提示し、

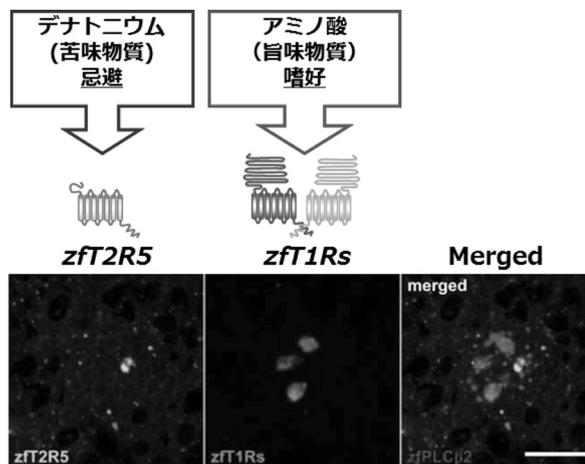


図2 旨味物質を受容するT1Rsと苦味物質を受容するT2Rsは異なる味蕾細胞集団に排他的に発現

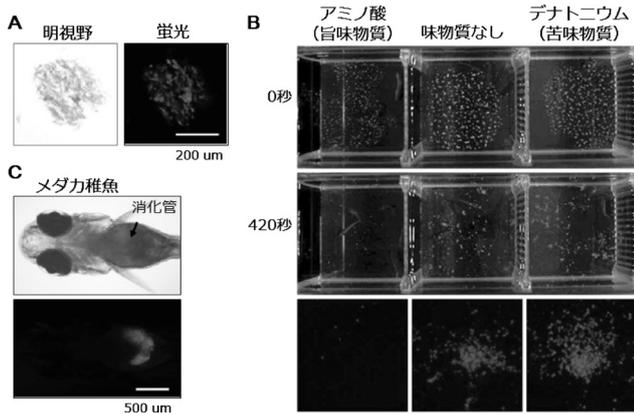


図3 小型魚類の味覚応答行動生理解析系を開発

飲量やなめる回数を計測して定量するという手法が確立しており、広く用いられている。一方、水棲生物には、この方法は適用できず、味覚応答の定量的な解析法はなかった。

本研究では、味物質と蛍光物質を含有した人工餌を作製し、小型魚類の味覚応答を定量的に解析する系を開発した(図3A)。旨味物質(アミノ酸)と苦味物質(デナトニウム)とを含む人工餌をゼブラフィッシュに給餌し、残存した人工餌の量から嗜好性を評価した。その結果、旨味物質を嗜好し、苦味物質を忌避することを明らかにした(図3B, *J. Neurosci.*, 2007)。

この人工餌を体の透明性が高いメダカ稚魚に給餌した場合は、消化管内の人工餌由来の蛍光強度として摂食量を定量できる(図3C)。さらに最近、人工餌を改良し、水溶性の高い酸味や塩味物質を含むすべての基本味への味覚応答を解析可能な系を確立した。

3. 小型魚類メダカを活用した味覚情報伝達・処理神経回路の解析

これらの解析を経て、われわれは小型魚類メダカをモデルとし、その特徴を生かして味覚システム研究を推し進めることを試みた。メダカを用いて味覚情報伝達・処理を担う神経回路の解析を行った。

小麦胚芽レクチン(WGA)は、経シナプ的に輸送される神経トレーサーであり、WGA遺伝子を発生工学的に標的細胞で発現させ、輸送されたWGAタンパク質を免疫染色で検出することにより、標的細胞を起点とする神経回路を標識できる。このWGA技術はマウスの味覚情報伝達・処理を担う神経回路解析に用いられたが、脳の味覚一次中枢までの標識が限界であった。われわれは、メダカでは、多数の味蕾細胞から脳へと神経の連絡が収斂していることを発見した。このことから、WGA技術をメダカに適用することで、高次まで味覚情報伝達・処理神経回路を明らかにできると期待し、解析を行った。

旨味・苦味細胞の2種の味受容細胞にWGAタンパク質を発現するトランスジェニックメダカ、mfplcb2-WGAメダカを作出し、接続する神経回路へのWGAタンパク質の輸送を観察した。その結果、WGAタンパク質の輸送は味覚一次中枢はもちろん、二次中枢を経て、終脳まで観察された(図4)。さらに、経時的な観察によって神経細胞間の連絡様式を大まかに解明できることも示した(*J. Comp. Neurol.*, in press)。この成果は、末梢の味受容細胞から味の認識に至るまでの情報伝達・処理に

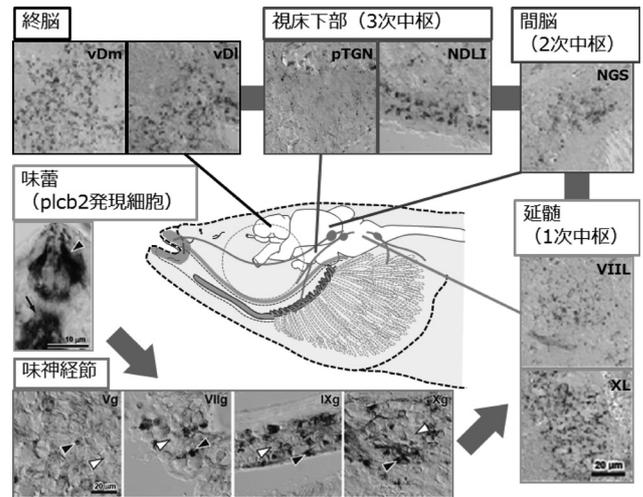


図4 メダカにおける旨味・苦味情報伝達・処理神経回路の同定

かかわる神経細胞群の標識に脊椎動物で初めて成功したものであり、味覚システム研究において長年の課題である、五つの異なる基本味の情報をどのように伝達・処理して認識しているかという問題(味情報のコーディング・デコーディング問題)の解明に大きく寄与することが期待される。

今後、標識された神経細胞群の分子的特徴の記述を行うことや、すべての基本味の情報伝達神経回路の標識、さらには、体の透明性が高いというメダカの特徴を利用して光遺伝学による神経細胞機能の解析を行うことなどによって、味情報のコーディング・デコーディング問題の解明を進めることができると考えている。

以上のように、小型魚類味覚システムについて分子・細胞レベルでの解明を進め、脊椎動物における味覚の共通原理の一端を解き明かした。さらに、小型魚類の味覚システム研究における有用性を示し、脊椎動物の味覚システム研究に新たな方向性を切り開いた。

謝辞 本研究は東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻生物機能開発化学研究室およびILSI Japan寄付講座「機能性食品ゲノミクス」で行われたものです。学生時代から厳しくそして温かくご指導ご鞭撻を賜り、本研究を開始するきっかけを与えていただきました東京大学名誉教授・阿部啓子先生に心より御礼申し上げます。また、本研究を進めるうえで多大な助言をいただきました松本一朗先生、安岡顕人先生、三坂巧先生、石丸喜朗先生、應本真先生に御礼申し上げます。本研究成果は、共に研究を行った多くの皆様の多大なるご支援によるものであります。大池秀明博士、永井俊匡博士、藍原祥子博士、内藤紘子氏、家木誉史氏をはじめ、研究室で共に研究を行ったすべての卒業生、在學生、在籍者の皆様方に深く感謝いたします。味神経応答解析は奥羽大学の丸井隆之先生、古山昭先生と共同研究をさせていただきました。心より感謝申し上げます。そして、これまでご指導ならびにご協力を賜りました指導者・共同研究者の皆様方に深く感謝いたします。最後になりましたが、さまざまな機会にご助言を賜り、本奨励賞にご推薦いただきました東京農業大学客員教授・荒井綜一先生に厚く御礼申し上げます。