サンショウウオの味覚受容機構

長井孝紀*

味細胞にも電位依存性のイオンチャネルがあることが、サンショウウオの一種であるマッドバピィで初めて示されて以来、サンショウウオは味のトランスダクションの重要な実験モデルとなってきた。受容機構は味の質によって異なるが、酸刺激の場合、味細胞の頂端部に局在する電位依存性のカリウムチャネルが主要な働きをする。味蕾の基底部にある基底細胞は味孔に伸びる突起は持たず、化学刺激を直接には受容できないが、味蕾内で介在ニューロンとして働く。この基底細胞からはセロトニンが伝達物質として放出され、味細胞の活動を調節する。サンショウウオの味識別能力は行動実験で示され、低濃度の食塩はアホートルの摂食行動を促進させるが、マッドバピィではさせない。これは、マッドバピィは他の脊椎動物が持つようなアミロライド感受性ナトリウムチャネルを持たないためらしい。

1. はじめに

味覚は化学物質を刺激として受容する感覚なので、嗅覚とあわせ化学感覚と総称される。受容細胞の膜レベルでの刺激変換機構の研究は最近、急速に進んでいる。特に、受容タンパク質のクローニングのような分子生物学手法が適用される段階にまで達したために、化学感覚の生理学を生業としてきた人々以外の、多くの研究者の参入と関心を集め、競争の激しい分野となっている。しかし、筆者が学生のころ(1970年代)はもっと寂しいものであった。研究の流れのブレイクスルーとなったのは、サンショウウオの一種で北米に広く分布する、マッドバピィ(*mudpuppy*, *Necturus maculosus*)を用いた実験である。ここでは味の受容と識別にかかわるイオンチャネル、伝達物質、行動実験をサンショウウオを実験モデルとして述べる。

2. マッドバピィの与えたインパクト

味細胞は数十個集まり味蕾を造るが、これはちょうど“タマネギ”のような形をしている。細くなったタマネギの頭の部分に相当するところは味孔と呼ばれ、ここを介して味細胞は外界と接触している²¹⁾(図1)。哺乳類では味蕾がさらに集合し乳頭を成し、乳頭どうしは隣り合って溝を造り、多くの味蕾はこの溝に横並びに味孔を向いている。ところが、サンショウウオでは味蕾は乳頭を造らず、平らな“舌”の上にみな上を向いて並んでいる(本稿で述べるサンショウウオには伸縮性の舌はなく、下顎全体が舌の役割を持つ)。この構造は味蕾への刺激や記録を容易にする。味蕾内には味細胞のほかに、基底細胞と呼ばれる小型の細胞があり、これらは舌咽神経に支配されている²⁸⁾(図2)。

どの教科書(例えば、Principles of Neural Science)にも取り上げられている味細胞の受容器電位はハムスターから記録されたもので、味刺激に対応したゆっくりとした脱分極である¹⁵⁾。当時は、化学刺激の代わりに通電刺激を加えても、自己再生過程を伴う活動電位は生じないとされていた。これは他の感覚器や神経の細胞と異なる性質で、種々のイオンチャネル、特に電位依存性のナトリウム(Na^+)・チャネルやカルシウム(Ca^{2+})・チャネルに最大の関心を向けていた70年代の生理学者の興味を削いでしまい、味細胞は変わり者、緊急に研究する価値はないくらいに思われていた。しかし、Roperは1983年にこれまでの研究結果を覆す報告をした³⁰⁾。マッドバピィの味細胞を微小電極で調べると、そこにも神経にあるような Na^+ チャネルや Ca^{2+} チャネルがあることが見事に示されたのである(図3)。この報告では、通電刺激でスパイクを発生させているが、数年後化学刺激でもスパイクが出ることが示され

*Takatoshi NAGAI, 帝京大学医学部第一生理学教室(〒173 東京都板橋区加賀 2-11-1)

図1 マッドバピイの味蕾の構造 D: 暗細胞, L: 明細胞, B: 基底細胞, A: 舌咽神経の神経末端, J: 味細胞の頂端部での接合部。味受容をする細胞は暗細胞だけか, 暗細胞と明細胞の一部であろうと言われている。矢印はシナプス。文献31より引用。

図2 舌咽神経に支配される味蕾内の細胞 脂溶性の蛍光色素 diI をアホートルの舌咽神経に与えると神経膜を拡散しシナプスを越え, 支配する味蕾内の細胞を標識する。蛍光像(白色)をノーマルスキー像(灰色)に重ねあわせている。共焦点レーザー顕微鏡による観察。矢印: 基底細胞, 矢頭: 味細胞の突起の部分, その下には細胞体が続く。N: 舌咽神経の一部。校正は50μm。

た¹⁸⁾。

味細胞の興奮性が一般的な現象ならば, これまでどうして報告されなかったのだろう。従来, 専ら使われて来たラットやカエルの味細胞は比較的小さくまた構造上, 微小電極を刺入する際のダメージが避けられず, 記録すべき電流が遺漏してしまい, 細胞の興奮性が失われていたのだと, Roper は論じている。一方, マッドバピイの味細胞は大きく長さ50μm にもなる(図1)。さらに, 味孔は大きく露出しているので, 直視下で微小電極を巧みに操作しながら刺入できる。このため細胞へのダメージは最小限に抑えられたのだろう。Roper の報告を契機に味細胞の興奮性を示す研究が続々と発表され

るようになるのだが, 実は彼の報告と同じ年に, Kashiwayanagiらはカエルの味細胞で Na^+ と Ca^{2+} チャネルを報告している¹⁴⁾。しかし, おそらく前述した弱点のため, 陽極開放興奮という形でしかスパイクを起こせなかった。ならば, 電流の遺漏の少ない記録方法を用いれば, スパイクが記録できるはずであり, 果たして1987年にはMiyamotoら²⁴⁾ またAvenet and Lindemann²⁾ によって, パッチ電極でカエルの味細胞でも自己再生的な活動が記録されたのである。言うまでもなく, この記録法は細胞内液の制御を可能にするので, これ以後細胞内情報伝達系などを絡めたイオンチャネルの解析が花盛りとなる。

図3 マッドパピイの味細胞で初めて記録された活動電位 活動電位(A図, 矢印)は Na^+ チャネルと K^+ チャネルをブロックした条件では, 鋭いピークを失い幅広くなる(B図, 矢印)。文献30より引用。

3. パッチ・クランプ味細胞でのトランスダクション

味には塩味, 甘味, 酸味, 苦味の4基本“味質”があり, それぞれの味質を代表する化学物質として, 食塩(NaCl), 蔗糖(sucrose), 薄い塩酸(HCl), 塩酸キニーネ(quinine- HCl)などが挙げられる。これらは味細胞の頂端部(味孔で外界と接している部分)で受容される(味質によって受容体を介する場合とそうでない場合がある)と考えられる。受容器電位の発生に関与するイオンチャネルの多くはここにあるが, タイトジャンクションより下にあつて, 外界とは接していない基底外側部(basolateral membrane)にも味の受容に関るイオンチャネル, さらにポンプ

機構が知られている。味の刺激変換機構はひとつではなく, いくつかの機構が味の質に応じて, 異なった組み合わせ方をしている^{4, 16)}。さらに, この機構は動物種によって多様なのが味覚の特徴であるが, 本稿ではサンショウウオ(両生綱有尾目)に限定して述べる。イオンチャネルからみた動物の多様性に関心のある方は, 脊椎動物の味細胞の受容機構を比較した最近の総説³²⁾を参照されたい。また, 味細胞のイオンチャネルについてはカエルを用いた多くの研究があるが, これについて同じ著者による最近の総説³³⁾がある。

さて, マッドパピイの味細胞では, 図3に示すように活動電位は Ca^{2+} 成分を多く含む。その他に, 多くのニューロンで観察されるような電位依存性の Na^+ チャネル, K^+ チャネルがあり, さらに Ca^{2+} 依存性のチャネルもある¹⁷⁾。マッドパピイの味細胞にもパッチ・クランプ法が適用され, 味刺激が誘起する電流成分が電位固定下で調べられ¹⁹⁾, そのイオンチャネルの味細胞上での分布も明らかにされている²⁰⁾。 K^+ チャネルによるコンダクタンス変化は, 特に酸味刺激の変換に重要と考えられている。電位依存性の K^+ チャネルによる電流には, 不活性化の遅い外向き電流と内向き整流性の電流があるが, 酸味刺激は外向き K^+ 電流を著しく減少させる(即ち, 脱分極)が, 内向きの Na^+ と Ca^{2+} 電流は少ししか減少させない。ホールセル・クランプ法で味細胞全体から電流を記録し, 同時にルース・パッチ電極で細胞の各部分から電流を記録すると, K^+ チャネルは, 面積的には全体の1~2%を占めるにすぎない味細胞の頂端部に集中している。一方, Na^+ チャネルは, 割合は少ないが細胞の各部, ほぼ一様に分布している²⁰⁾(図4)。基底外側部には K^+ チャネルがほとんどないために, 頂端部での電流変化が相殺されることなく, 効果的に脱分極できるものと考えられる。酸刺激を受けると, 頂端部にある Na^+ チャネルと Ca^{2+} チャネルもブロックされるが, これらのチャネルは基底外側部にもあるので, 味細胞は興奮性を保っていられる。

苦味刺激に対しては外向き電流(K^+)の減少はさほど大きくなく, 内向き電流(Na^+ と Ca^{2+})の減少のほうが大きい¹⁹⁾。外向き電流をテトラエチル・アンモニウム(TEA)でブロックし, 電流固定下で塩酸キニーネに対する受容器電位を記録してみると, 少しだけ小さくなった。したがって, 苦味の受容器電位発生には電位依存性の K^+ チャネルは部分的に

図4 味細胞膜でのイオンチャネルの分布 A: 味細胞の頂端部から記録された K^+ 電流。B: 同じく、基底外側部から記録されたもの。各トレース、上はホールセル電流、下はルースパッチ電流。C: 頂端部、頂端部周辺、基底外側部の各領域での K^+ 電流と Na^+ 電流の分布。ホールセル電流を100とした割合で示す。文献20から引用。

しか関与していないらしい。ラットの味細胞では苦味の場合、膜電位によらず細胞内のカルシウムを利用して伝達物質の放出が起きると示唆されているので¹⁾、マッドパピイの苦味受容にもイオンチャネル以外の機構があるかもしれない。

塩味の刺激変換は主としてアミロライド(amiloride)に感受性をもつ Na^+ チャネルによって行われるという説が、哺乳類³⁾とカエル³⁾では支配的である。このチャネルは電位依存性の Na^+ チャネルと異なり、膜の電位に依存しない。外部のナトリウム濃度が増加すると、 Na^+ イオンは膜の内側へ流れ込むが、アミロライドでブロックされる。このような性質を持つ Na^+ チャネルは上皮細胞で一般的に知られている。流入した Na^+ は味細胞を脱分極させ、基底外側部にある電位依存性の Na^+ チャネルを活性化させ、スパイクを起こさせる。これはさらに、 Ca^{2+} チャネルを活性化させ、細胞内の Ca^{2+} 濃度増加、伝達物質の放出、味細胞を支配する求心神経の興奮と、一連の過程を引き起こし、塩味を中枢神経系に伝えられる。ところが、マッドパピイの味蕾を支配している舌咽神経からは食塩刺激に対

する神経応答が記録されるが、これはアミロライドでブロックされない²³⁾ので、アミロライド感受性 Na^+ チャネル以外の刺激変換機構もあるはずである。ただし、マッドパピイとは別の科に属するサンショウウオであるタイガーサラマンダー(tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*)の味細胞では、アミロライド感受性 Na^+ チャネルがあるので³⁵⁾、マッドパピイだけが例外なのかもしれない。アミロライドでブロックされる“味”は4基本味質のなかの“塩味”であることがヒトの心理実験で調べられている³⁴⁾。アミロライドでブロックされない舌咽神経の神経応答は、マッドパピイの場合“塩味”を伝えていないと解釈すると、この動物が行動上、食塩刺激を意味のある刺激として受け取っていないこと(後述)が、納得できるかもしれない。

4. 味蕾内での情報処理—伝達物質としてのセロトニン

サンショウウオでは、味蕾は舌の前部に分布するものを含めて舌咽神経によって支配されている²⁸⁾の

表1 マッドバビィの味蕾における神経伝達および神経修飾物質候補
についての免疫細胞化学の結果一覧

抗血清	味蕾を支配する神経線維	味細胞	基底細胞
GABA	+++	---	---
Glutamate	+++	---	---
Histamine	---	---	---
NSE	++++	+	---
Serotonin	---	---	++++
CCK	---	---	++
CGRP	++	---	+
Galanin	---	---	---
Substance P	+	(-)	---
VIP	++	---	---
ChAT	---	---	---
TH	---	---	---

＋は反応物の相対的強さを示す。－は反応物がなかったことを示す。

で、多数の味細胞の集合としての出力を調べるには、舌咽神経の神経活動を記録する方法がとられる。味細胞と求心神経との間には化学シナプスがあり⁸⁾、ここでの情報伝達は化学伝達物質による。伝達物質候補として、ごく初期の研究ではアセチルコリンが挙げられた²²⁾。味細胞には組織蛍光法によって、まずカテコールアミンが検出された⁷⁾が、その後の詳細な実験ではセロトニン(5-HT)の存在が明らかとなった²⁶⁾。カテコールアミン類とセロトニンを舌の動脈に投与し、舌咽神経の味覚応答を調べた実験では、セロトニンではなくノルピネフリンが伝達物質である可能性が示唆された^{25, 27)}。しかし、ドーパミン、ノルエピネフリン、エピネフリンの生合成に必要な酵素(tyrosine hydroxylase, TH)が検出されていない²¹⁾ことは、味細胞-求心神経間のシナプスをアドレナリン作動性とする考えに一致しない。

伝達物質を同定するには、伝達物質の存在や合成系、伝達物質の放出とその不活性化機構、アンタゴニストの効果など多くの基準が満たされねばならない。伝達物質の存在を調べるのは同定の第一歩であろう。各種候補物質の分布をマッドバビィの味蕾内で、免疫細胞化学法で調べた結果を表1にまとめて示す³⁷⁾。味蕾を神経支配している線維には vasoactive intestinal peptide (VIP), substance-P, cal-

citinin gene-related peptide (CGRP) 様のペプチド, neuron-specific enolase (NSE), さらに GABA とグルタミン酸(Glutamate)が認められた。味細胞に検出されたのは NSE だけであった。基底細胞にはセロトニン(Serotonin)様と cholecystokinin(CCK)様の非常に強い抗体反応が見られた。コリンアセチルトランスフェラーズ(ChAT)とチロジン水酸化酵素(TH)は検出されなかったので、コリン作動性あるいはアドレナリン作動性のシナプス機構はなさそうである。

ある物質が伝達物質であるならば、化学刺激に応じて味細胞から放出されねばならない。また、放出後その作用を短時間で終了させるためには、酵素による分解やシナプス部位での取り込み機構が必要である。そこで、長井らはアイソトープでラベルした伝達物質候補(セロトニン、グルタミン酸、GABA)を含む生理食塩水中で、切り出したマッドバビィの舌上皮をインキュベイトし、取り込みと放出を調べた²⁹⁾。セロトニンは味蕾の中の基底細胞に特異的に取り込まれ、40mM の塩化カリウム(KCl)で脱分極させると、取り込まれたセロトニンは約半分放出された。さらに、シナプス伝達をブロックした条件(低 Ca^{2+} , 高 Mg^{2+})ではこの放出は起こらなかった。一方、グルタミン酸と GABA はグリアと思わ

図5 マッドパピの舌のスライス標本と記録 左: 味蕾を化学刺激する様子。刺激用のピペット(描かれていない)から噴出された刺激液は径の大きいピペットで吸い込まれるので、味細胞の頂端部だけが刺激される。R: 受容細胞, B: 基底細胞, N: 神経線維。右: 塩化カリウムで刺激した時の、1つの味蕾内の3つの細胞(a, b, c)からの細胞内記録。aは味細胞の頂端部からの記録。bとcは味蕾の基底部に微小電極を刺入したときの記録、それぞれ味細胞と基底細胞からの記録であることが色素注入で同定された。a, b, cは左の図と対応。文献36から引用。

れる細胞に取り込みが見られたが、味蕾以外の舌上皮一般にも取り込まれた。しかし、求心神経線維末端への取り込みはなかった(表1と比較)。味蕾内には味細胞と思われる細胞がグルタミン酸を取り込んだが、これは脱分極刺激を与えても放出されなかったので伝達物質としての取り込みではないだろう。これらの結果と、先の免疫法の結果を合わせると、セロトニンだけが味蕾内での伝達物質としての基準を満たすことになる。

ところで、基底細胞は味蕾の底部に位置する丸形の比較的小さい細胞である。これは図1内のBで分かるように、突起を味孔へ向かって伸ばしていないので、化学刺激を直接には受容できないと思われる。ところが、これは味蕾内での情報伝達に重要な役割をしていることが、最近分かってきた。電子顕微鏡で調べると、実は基底細胞は2種類の細胞からなる⁹⁾。一つは未分化な細胞で幹細胞と思われる。もう一つはセロトニン免疫陽性で、細胞内に有芯顆粒を含み、皮膚にある機械受容器を構成するメルケ

ル細胞(Merkel cell)と類似の細胞内構造を持つ。それで、この細胞をメルケル様基底細胞(Merkel-like basal cell)と呼ぶが、周囲の味細胞および舌咽神経とシナプスしているので⁸⁾、セロトニン作動性の介在ニューロンではないかと推論されている⁹⁾。

介在ニューロンとしての機能を生理学的に証明するためには、シナプスの前と後のそれぞれの要素からの記録が必要となる。このために、EwaldとRoperはマッドパピの舌上皮をスライス標本にし、味細胞と基底細胞を区別して微小電極を刺入した^{10, 11)}。マッドパピの舌上皮の固有層は非常に弾力性のある組織で出来ていて、先の丸いハサミの先を使って、いとも簡単に剥離できる。これを“ニンジン”を薄く切って作った台に瞬間接着剤で固定し、250 μ mほどの立て切り切片とする。このような標本では味蕾を横から直視下で見ることができ、味蕾の底部にある基底細胞への電極刺入が可能となる。圧注入装置で化学刺激をパフ(puff)し、吸引用のピペットで引き込むことで、味細胞の頂端部だけを図

5のように刺激(140mM KCl)できる。基底細胞からはゆっくりとした立ち上がりの脱分極が記録された(図5右, トレースc)。味細胞からの記録(受容器電位, トレースa, b)と比べて常に100msほどの遅れがあった。基底細胞からの応答は Ca^{2+} 拮抗剤である Cd^{2+} を灌流液に加えると減少した。これらの結果から、基底細胞の脱分極は味細胞から放出された伝達物質によって引き起こされたシナプス後電位であると考えられる。

味細胞と基底細胞間のシナプスの電子顕微鏡像は、そこでのシナプス伝達が双方向に行われる可能性を示している⁸⁾。そこで、味細胞と基底細胞から同時記録し、脱分極性のパルス通電を基底細胞に与えた時の味細胞の応答を調べた。単発のパルスに対応したシナプス後電位は味細胞から記録できなかった。しかし、頻回刺激をすると、味細胞への影響が現れて来た。すなわち、味細胞の受容器電位(KCl刺激による)の増大、入力抵抗の増加、さらに膜電位の過分極が見られたのである。つぎに、基底細胞をパルス刺激する代わりに、灌流液にセロトニン(100 μM)を与えると、さきほどの頻回刺激と全く同じ効果が現れたのである。したがって、基底細胞はセロトニンを周りの味細胞に向かって放出し、味細胞の頂端部から基底外側部へ広がる受容器電位の電氣的緊張を増大させている(味細胞の化学感受性が高まる)と結論された。つまり、味細胞から舌咽神経への情報伝達の間には、味細胞→基底細胞→味細胞という回路が介在し、後者のシナプス伝達を担うのがセロトニンということになる。しかし、前者、味細胞から基底細胞へのシナプス、また味細胞から舌咽神経へのシナプスで働く伝達物質は未知で、今後の研究課題として残されている。

5. 味識別の行動実験

サンショウウオの実験材料としての長所を強調しつつ、その味覚器の生理学と解剖学を解説してきたが、塩味、甘味、酸味、苦味の4基本味の総てに対し、良いモデルとなっているかは疑問である。例えば、蔗糖刺激に対しては、サンショウウオの舌咽神経はほとんど応答しない。しかし、これだけで“甘味は分からない”とは結論できない。神経の刺激-応答曲線は行動上の閾値より高いところで調べられているからだ。そこで、筆者らはメキシコ原産のサンショウウオ、アホロートル(axolotl, *Ambystoma*

mexicanum)を用い味覚の行動実験を行った³⁶⁾。ちなみに、アホロートルはタイガーサラマンダーと同様に、*Ambystomatidae*科に属し、マッドパピイは*Proteidae*科に属する。また日本のハンザキ(*Megalobatrachus*)は*Cryptobranchidae*科である。

水中で生活するサンショウウオで、味覚の行動実験を行うにはいくつかの困難がある。まず、ラットで使われる2瓶選択法は使えない。水槽の底に置いたエサに対する索餌行動は極めて緩慢で定量的測定に不向きである。さらに、自然な条件で口を開かせ摂食させなければ、味覚受容器を刺激できない(体表に味覚器を持つ魚類では刺激が容易)。アホロートルは水面の振動に敏感に反応し、水中を落下してくるエサを一気に口のなかに入れようとする。このような捕食行動を利用することによって、味刺激の濃度依存性など定量的測定が可能になった。

味刺激液を寒天などで固形状にし、このペレットをアホロートルのすぐ近くに落とすと、飲み込むか吐き出すかのいずれかの行動が確実に起きた。吐き出し率[吐き出し回数/(吐き出し回数+飲み込み回数)]を求め、アホロートルの味識別の尺度とした。全部吐き出す場合が100%、全部飲み込む場合が0%と計算される。落下してくるペレットを反射的に口を含むため、よほど“悪い味”でないかぎり吐き出さないらしく、コントロールとして蒸留水を含ませたペレットでも、吐き出し率は10%以下となった。塩化ナトリウム(食塩)、塩化カリウム、蔗糖、クエン酸、塩酸キニーネの各濃度段階の味刺激に対する吐き出し率を調べると、刺激の種類と濃度に依存した特徴が見られた(図6A)。キニーネに対する吐き出し率は低濃度(1mM)でも60%と高かった。クエン酸、塩化カリウムに対しては濃度依存的に10%から80%ぐらいまで増大した。一方、食塩に対しては最高濃度(2.0M)でも吐き出し率は低く(30%)、蔗糖ではほとんど吐き出さず、コントロールと変わらなかった。

次に、舌咽神経の束から味刺激に対する応答を記録し、行動と神経応答との関係を調べた。舌咽神経応答は蔗糖刺激以外は濃度依存的に増大したので、0.5MのKClを100として正規化し、吐き出し率をプロットした(図6B)。キニーネ、クエン酸、塩化カリウムに対する吐き出しに比べて、食塩に対する吐き出しはずっと小さいことが分かる。神経応答の大きさが同じ(例えば200のところ)であっても、食

図6 アホロートルの摂食行動 A: 味刺激の濃度とベレットの吐き出し率。H, クエン酸; Q, 塩酸キニーネ; K, 塩化カリウム; Na, 塩化ナトリウム; S, 蔗糖。B: 舌咽神経応答の大きさと吐き出し率。塩化ナトリウムに対する吐き出し率は小さい。C-E: ベレットの吐き出しに対する、2種類の混合味刺激の効果。実線はキニーネ(C, D, E)または塩化ナトリウム(F)の単独の味に対する吐き出し。点線は混合味刺激に対する吐き出し。文献36から引用。

塩による神経応答はアホロートルにとって、他の3種の味刺激によるものとは異なった意味、即ち異なる味、を持つと考えられよう。食塩の吐き出し率が小さいことは、逆に飲み込みが多いことにほかならない。しかし、本実験では蒸留水で作った“無味”のベレットの吐き出し率は10%以下なので、仮に味刺激に飲み込み行動を積極的に促進させる効果があっても(特に閾値100mM近辺, 図6A), これは見えてこない。そこで、吐き出しに作用する味刺激に食塩を混ぜてやり、もしその吐き出しが減少すれば、飲み込みへの促進効果があることになる。

100mMの食塩をキニーネのベレットに混合すると、キニーネに対する吐き出しは有意に抑制された(図6C)。ところが、食塩の代わりに塩化カリウム(100mM)を用いて、同じ実験を行うと、キニーネに対する吐き出し率は変化なかった(図6D)。さらに、蔗糖のベレットはその濃度全域で吐き出し率が低かったが、蔗糖をキニーネのベレットに加えても吐き出しが軽減されることはなかった(図6E)。これらの実験は100mMの食塩だけがアホロートルの摂食行動を吐き出しから飲み込みへと変化させる力があることを示している。一方、10mMのキニーネを食塩に混ぜた場合には、食塩の吐き出しは著し

く増強された(図6F)。

吐き出し行動の抑制は、舌咽神経の応答が単に減少したためによるのかも知れない。キニーネと食塩の混合液に対する神経応答を調べたところ、この可能性は否定された。従って、食塩はキニーネとは質的に異なった神経応答を引き起こし、キニーネのベレットの吐き出しを抑制するのだと考えられる。逆に、キニーネは食塩のベレットの吐き出しを増強させたが、2つの混合液による神経応答はそれに見合うだけ増大されたわけではなかった。さらに、同じ程度の吐き出し(例えば、60%)を引き起こすのに必要な神経応答量をキニーネと塩化カリウムの間で比べると、キニーネのほうがはるかに小さい(図6B)。キニーネのベレットの吐き出しには、舌咽神経の興奮は少しでよいことになる。このようにアホロートルは神経応答の量的な情報だけでなく、そのなかの質的信息も参照していると言えよう。哺乳類では食塩に対する嗜好性が100~150mMで起る^{6, 12)}が、アホロートルでもほぼ同じ濃度範囲であった。ベレットでの刺激であることと水中での環境を考慮すれば、実効濃度はもっと低いであろう。水中の小動物(体内に塩類を含む)を捕食しているアホロートルにとっては、これは意味があろう。さて、われわれの研究

と相前後してマッドパピイでも味覚の行動実験が行われた⁵⁾。興味深いことに、この動物では食塩に対する嗜好性が見出されず、これは食塩の味細胞レベルでの受容機構の違いによると思われる。

6. マッドパピイでの行動実験と味の受容機構

マッドパピイの摂食行動パターンはアホートルとかなり異なる。水面にペレットを落下させてもアホートルのように反射的には食いつかないので、動物の直ぐ前に呈示し、食いつくのを待たなければならない。口に含んだ後も吐き出すか飲み込むかを直ぐには決めず、遅い場合には5分もかかって“考える”ようである。従って、コントロールとなる味刺激を含まないペレットの吐き出し率は高く、50パーセントにもなる。また、強い吐き出し行動を起こす味刺激を繰り返すと、マッドパピイはこれを学習するらしく、コントロールの吐き出し率が高くなってしまう。そのため同一の個体でただか1回しか実験できない。アホートルの場合は3、4回の実験が可能である。もちろん満腹になってしまえば吐き出すのは当然となるので、われわれのアホートルの実験ではこの点をチェックしている。

各種の味刺激に対する吐き出し率を調べると、有意に高い吐き出しを起こすものはいずれも、その刺激の受容に際し味細胞膜にある K^+ チャンネルを必要とするものであった(図7A)。塩化カリウムは K^+ チャンネルを通過して味細胞を脱分極させ¹⁸⁾、塩化カルシウム、キニーネ、テトラエチル・アンモニウム(TEA)、クエン酸は K^+ チャンネルをブロックすることにより脱分極を起こさせると考えられている²⁰⁾。塩化ナトリウムに対する吐き出しはコントロールのレベルと変わらなかったが、ミノウ(コイ科の小魚)をすり潰した抽出液を与えると、吐き出しは全く起こらず全部飲み込んでしまった。ミノウ抽出液をクエン酸に加えると吐き出しは軽減されたので、抽出液には摂食行動を促進させる(飲み込ませる)成分があると考えられる。この成分は何であろうか。

抽出液を透析し、低分子の成分を除いてみたが、摂食行動(吐き出し率0%)はそのまま維持された(図7B)。ところが分子量14,000まで透析を広げると摂食は減少しコントロールの吐き出しと変わらなくなったので、有効な促進成分は比較的高分子であるらしい。各種のアミノ酸(マッドパピイの舌咽神経で刺激効果のあるもの)を組み合わせた溶液を与

図7 マッドパピイの摂食行動 A: K^+ チャネルブロッカーなどの効果。B: ミノウの抽出物などの効果。a.a.6-aとa.a.6-bは6種類のアミノ酸の組み合わせ。文献5から引用。

えてみたが、特に促進効果の強いものは見出せなかった。アミノ酸だけでなく、ミノウの体内には塩化ナトリウムも含まれているはずだ。また、アホートルの実験では低濃度の塩化ナトリウムは摂食行動を促進させるので、マッドパピイでは200mMの塩化ナトリウムが試みられた。しかし、吐き出し率は減少しなかった(図7Bの右端の棒グラフ)。

塩化ナトリウムがマッドパピイの摂食行動に無効であったことは、アホートルでの結果と異なる。これは塩化ナトリウムの受容に関するイオンチャンネルが2つのサンショウウオで異なるためらしい。すでに述べたように哺乳類では塩化ナトリウムの受容には、主としてアミロライド感受性の Na^+ チャンネルが関与すると考えられているが、マッドパピイではこのチャンネルはない。一方、アホートルの味細胞にはおそらくこのチャンネルがあると推測される(先に述べたが、アホートルと同じ科に属するタイガー

サラマンダーはアミロライド感受性の Na⁺チャネルを持つ)。マッドバピィの舌咽神経は塩化ナトリウム刺激に応答していても，“塩味”を伝えていないことになるのだろうか。味細胞の膜にあるチャネルの研究だけでは、これ以上、味の識別機構を論じることができないのは言うまでもない。

文 献

- 1) Akabas, M.H., Dodd, J., & Al-Awoati, Q.: Science 242: 1047-1050 (1988)
- 2) Avenet, P., & Lindemann, B.: J. Membrane Biol. 97: 223-240 (1987)
- 3) Avenet, P., & Lindemann, B.: J. Membrane Biol. 105: 245-255 (1988)
- 4) Avenet, P., Kinnamon, S.C., & Roper, S.D.: Mechanisms of Taste Transduction. 161-173 (1993)
- 5) Bowerman, A.G. & Kinnamon, S.C.: Chem. Senses 19: 303-315 (1994)
- 6) Carpenter, J.A.: J. Comp. Physiol. Psychol. 49: 139-144 (1956)
- 7) DeHan, R.S., & Graziadei, P.P.C.: LifeSci. 13: 1435-1449 (1973)
- 8) Delay, R.J., & Roper, S.D.: J. Comp. Neurol. 277: 268-280 (1988)
- 9) Delay, R.J. & Roper, S.D.: J. Comp. Neurol. 335: 606-613 (1993)
- 10) Ewald, D.A. & Roper, S.D.: J. Neurophysiol. 67: 1316-1324 (1992)
- 11) Ewald, D.A. & Roper, S.D.: J. Neurosci. 14: 3791-3804 (1994)
- 12) Flynn, F.W. & Grill, H.J.: Behav. Neurosci. 102: 934-941 (1988)
- 13) Heck, G.L., Miereson, S., & DeSimone, J.A.: Science 223: 403-405 (1984)
- 14) Kashiwayanagi, M., Miyake, M., & Kurihara, K.: Amer. J. Physiol. 244: C82-C88 (1983)
- 15) Kimura, K. & Beidler, L.M.: J. Cell. Comp. Physiol. 58: 131-140 (1961)
- 16) Kinnamon, S.C.: Trends. Neurosci. 11: 491-496 (1988)
- 17) Kinnamon, S.C., & Roper, S.D.: J. Physiol. 383: 601-614 (1987)
- 18) Kinnamon, S.C., & Roper, S.D.: Chem. Senses 13: 115-121 (1988)
- 19) Kinnamon, S.C., & Roper, S.D.: J. Gen. Physiol. 91: 351-371 (1988)
- 20) Kinnamon, S.C., Dionne, V.E., & Beam, K. G.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85: 7023-7027 (1988)
- 21) Kuramoto, H.: Arch. Histol. Cytol. 51: 205-221 (1988)
- 22) Landgren, S., Liljestrand, G., & Zotterman, Y.: Acta. Physiol. Scand. 30: 105-114 (1954)
- 23) McPheeters, M., & Roper, S.D.: Chem. Senses 10: 341-352 (1985)
- 24) Miyamoto, T., Okada, Y., & Sato, T.: 第21回味と匂のシンポジウム論文集, 251-254 (1987)
- 25) Morimoto, K., & Sato, M.: Jpn. J. Physiol. 32: 855-871 (1982)
- 26) Nada, O., & Hirata, K.: Histochemistry 43: 237-240 (1975)
- 27) Nagahama, S., & Kurihara, K.: J. Gen. Physiol. 85: 431-442 (1985)
- 28) Nagai, T.: J. Comp. Neurol. 331: 122-133 (1993)
- 29) 長井孝紀, Delay, R.J., & Roper, S.D.: 第6回日本比較生理生化学会予稿集, S17 (1995)
- 30) Roper, S.D.: Science 220: 1311-1312 (1983)
- 31) Roper, S.D.: Ann. Rev. Neurosci. 12: 329-353 (1989)
- 32) Sato, T., Miyamoto, T., & Okada, Y.: Zool. Sci. 11: 767-780 (1994)
- 33) Sato, T., Okada, Y., & Miyamoto, T.: Prog. Neurobiol. 46: 239-287 (1995)
- 34) Schiffman, S.S., Lockhead, E., & Maes, F. W.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80: 6136-6140 (1983)
- 35) Sugimoto, K., & Teeter, J.H.: Chem. Senses 16: 109-122 (1991)
- 36) Takeuchi, H.-A., Masuda, T. & Nagai, T.: Physiol. Behav. 56: 121-127 (1994)
- 37) Welton, J., Taylor, R., Porter, A.J., & Roper, S.D.: J. Comp. Neurol. 324: 509-521 (1992)