原 著

電気性味覚の発現機序に關与する Na⁺ チャネルについて

水 越 常 善

朝日大学歯学部口腔生理学講座（指導：船越正也教授）

〔受付：平成元年10月11日〕

Sodium channels participate in the transduction mechanism for “electric taste”

Tsuneyoshi Mizukoshi

*Department of Oral Physiology, Asahi University School of Dentistry
Hozumi, Motosu, Gifu 501-02, Japan
(Director : Masaya Funakoshi)*

〔Accepted for publication : October 11, 1989〕

Key words : Electric taste / taste transduction mechanism / sodium channel

Abstract : Taste transduction mechanisms for “electric taste” were studied by examining effects of lingual treatment with the sodium channel blockers (amiloride, procaine and tetrodotoxin <TTX>) on the rat chorda tympani nerve responses to chemical and electrical (anodal) stimulations of tongue.

The lingual treatment of amiloride produced ion-specific inhibition of integrated responses of the whole chorda tympani nerve to both chemical stimulation with 0.1M NaCl and electrical stimulation with 0.001M NaCl as the bathing medium. Procaine and TTX also suppressed responses to electrical stimulations with 0.001M NaCl, but these drugs produced almost no effect on responses to chemical stimuli alone.

Similar ion-specific and/or stimulus-specific inhibitions of amiloride and/or TTX were observed also in responses of single chorda tympani nerve fibers, although the extent of the inhibition of the responses by each drug varied among the fibers.

These results suggest that the taste transduction for “electric taste” involves at least three different mechanisms, the first is through a amiloride-sensitive sodium channel, the second through a TTX-sensitive sodium channel, and a third route, not through the amiloride-and TTX-sensitive channels.

緒 言

舌に弱い電流を流すといわゆる“電気性味覚”が誘発される¹⁾。一般に、陽極を舌表面に陰極を他部におき直流電気刺激すると、酸味が感じられ、

反対に陰極を舌表面におき直流刺激すると、弱い甘苦い味がすることが知られている²⁾。

この電気性味覚は、日常我々が感じる味覚とは少し異なるが、塩、酸、糖溶液などによる化学性味覚と比べると、舌の刺激部位をより正確に限定でき、閾値の測定も容易である利点があり、電気刺激装置があれば簡単に測定することができるこ

とから臨床味覚検査によく用いられている。特に、口蓋、内耳周辺の外科手術の際に起こり得る末梢味神経の損傷の検査、あるいは味覚障害の検査などに最も簡便で再現性の高い方法として有用となっている³⁻⁷⁾。しかし、この電気性味覚がどのようなメカニズムで発現するのかについては、現在なお不明の点が多い。

ヒトの官能テストやラット、ハムスター、カエルなどを用いた神経生理学的実験結果から、その発現機序については大きく3つの考え方が提唱されている。第1は、電流が直接味神経に流れ、神経を興奮させるとするもの²⁾、第2は、電気刺激により舌表面のイオンが電気泳動的に受動膜側に移動し、味覚受容体を刺激して味細胞を興奮させるとするもの^{2,8-10)}。第3は、電流が受容膜を介して味細胞のシナプス部位に流れその部位の細胞膜を脱分極させ、シナプス伝達が起こるとするもの¹¹⁾である。

第1の説は、電気性味覚の発現は味受容膜を介さないとするもので、化学刺激による味覚の発現機序とはかなり異なっている。第2、第3の説は化学刺激と電気刺激の両種による味覚の発現機序が類似しているとするもので、特に味覚の受容、トランスダクションメカニズムが一部あるいは全部共通するとする考え方である。陽極刺激に対するラット、ハムスター、カエルなどの味神経応答を調べると、電気刺激の際に用いるメディウムのイオン種によって応答の大きさが異なり、そのイオン応答特性は化学刺激の場合とほぼ一致することなどから第2、第3の説を支持する報告は多い^{8-10,12-15)}。しかし、ヒトの官能テストでは、舌表面のイオン種を種々変化させても陽極刺激で誘発される味覚は酸味であり、イオン特異性は不明確であること¹²⁾、またラット単一鼓索神経線維の中には、化学刺激に対する応答と電気刺激に対する応答のイオン特異性が全く異なるものも見出されていること^{9,13,14)}などから、電気性味覚の発現機序は化学性味覚の発現機序と一部異なっている可能性が考えられる。

近年、種々の動物の味細胞で、アミロライド感受性 Na^+ チャンネル^{14,16-20)}、膜電位依存性 Na^+ チャンネル²¹⁻²³⁾、膜電位依存性 Ca^{2+} チャンネル²⁰⁾など

のイオンチャンネルの存在が報告され、それらチャンネルが味応答発現に関与している可能性が示唆されている。そこで本研究は、電気性味覚の発現機序を明らかにする目的で、化学・電気両種刺激によるラット鼓索神経応答に対するアミロライド感受性及び膜電位依存性 Na^+ チャンネルの阻害剤の効果を比較検討した。

実験方法

実験には、30匹の雄のウィスター系のラット(300~500g)を用いた。ネブタール麻酔(50mg/kg)下で、気管カニューレを装着し、頭部を固定後、鼓索神経を露出した。神経は露出後周囲組織より分離し、中枢側で切断した。味応答は主として鼓索神経全線維束より記録したが、必要に応じて単一神経線維からも記録した。記録電極には、銀・塩化銀電極を用い、それに鼓索神経をのせ不閉電極は手術部位の近くに置いた。化学および電気刺激に対する神経応答は、増幅器(医用電子光学K-1)を介し、オシロスコープ(日本光電VC-10)上でモニターした。鼓索神経全線維束の応答は積分計(バイドラー型)にて積分し、単一神経線維の応答は直接サーマルアレイコーダ(日本光電)またはデータレコーダー(ソニーDFR-3515)に記録した。ラット舌の舌尖側半分をシリコン製のフローチャンバーで覆った。各溶液は、“Tasto-matic”²⁴⁾でコントロールされた電磁弁で切り換え、フローチャンバーを介し、一定時間舌表面に一定の流速(2.5ml/sec)⁹⁾で流した。

電気刺激は陽極電気刺激とし、陽極の銀・塩化銀電極をフローチャンバーの内壁に設置し、陰極の銀・塩化銀電極は頸部皮下に装着した。舌への電気刺激には、Trapezoid Generator(ダイヤモンド)を用いた。電流値を安定させるため刺激装置と刺激電極との間に1M Ω の抵抗を直列につないだ。ピーク電流値は2.5~30 μA で、立ち上がり速度は100 $\mu\text{A}/\text{sec}$ 、刺激時間は約10秒で行った。電流値は、電流計でモニターした。

化学刺激に用いた標準味溶液は、0.1M NaCl、(必要に応じて0.001~1.0M)、0.1M KCl(必要に応じて0.001~1.0M)、0.1M HCl、0.1M CaCl_2 、0.02M塩酸キニーネ、0.5Mシュクロー

Fig. 1 Integrated chorda tympani responses of a rat to six taste stimuli (0.1 M NaCl, 0.1 M KCl, 0.01 M HCl, 0.1 M CaCl_2 , 0.5 M sucrose, 0.02 M quinine-HCl), and the anodal current stimulation (15 μA) with the four bathing medium (0.001 M NaCl, 0.001 M KCl, 0.001 M CaCl_2 , 0.0001 M HCl), and cold stimulation with 5°C distilled water before (control) and after (amiloride) 100 μM amiloride treatment applied to the tongue for 5 min.

スで約20°Cの蒸留水で調整した。冷刺激として、約5°Cの蒸留水を用いた。電気刺激のメディウムは、1 mM NaCl, 1 mM HCl, 1 mM KCl, 1 mM CaCl_2 を用いた。舌の洗浄は蒸留水を用い、洗浄時間は1分間以上とした²⁵⁾。電気刺激に用いたメディウムは、刺激前30秒間と刺激期間中流し続けた。

用いた薬物は、0.1~1.0%プロカイン (10, 30分間), 100 μM アミロライド (2.5分間), 1 μM テトロドキシン (10分間) を用い、カッコ内の時間で舌処理した。

鼓索神経全線維束の積分応答値は、記録紙上より計測し、各刺激に対する応答値は、tonic 応答の刺激5秒後の値とした。鼓索神経単一神経線維の応答値は、各刺激開始後5秒間のインパルス数とした。

実験結果

I. アミロライド舌処理による応答抑制効果

種々の上皮細胞の受動的 Na^+ 輸送を抑制する薬物として知られているアミロライド¹⁶⁻¹⁹⁾で舌を処理し、化学電気両種刺激に対する応答の抑制効果について検討した。

Fig. 1は、100 μM アミロライド舌処理前のコ

ントロールと5分間舌処理後の各刺激に対する鼓索神経全線維束の積分応答例を、Fig. 2はそれぞれコントロールを100とした時のアミロライド舌処理後の相対応答値(%)を示す。

まずコントロールの化学刺激に対する積分応答は標準味溶液として今回用いた濃度で比較すると、NaClが最も大きく、次いでHCl, CaCl_2 , 塩酸キニーネ, KCl, シュークロースの順であった。それに対して電気刺激(陽極15 μA)の各メディウムを用いた時の応答の大きさは、 $\text{NaCl} > \text{KCl} > \text{CaCl}_2 \geq \text{HCl}$ の順であった。アミロライド舌処理後、化学刺激ではNaClに対する応答だけがコントロールの約50%(刺激5秒後の応答値)に減少し、統計的に有意な抑制が認められた(t-test, $p < 0.05$)。電気刺激ではNaClとKClをメディウム(Naメディウム, Kメディウム)として用いた時の応答が、それぞれコントロールの約70%, 80%に減少したが、Naメディウムの場合のみが統計的に有意であった(t-test, $P < 0.05$)。

化学刺激のNaCl, KClのアミロライド舌処理前後の濃度応答曲線(Fig. 3)を比較すると、0.3 M以上のKClの応答はアミロライドで抑制される傾向が認められ、イオン特異性が高濃度領域で減少することが示唆された。

Fig. 2 Mean percent responses (control=100%) of the chorda tympani nerve to chemical, electrical and cold stimulations after the amiloride treatment for 5 min. Vertical bars indicate SDs.

* : t-test, $p < 0.05$.

Fig. 3 Concentration-response relationship for NaCl (circles) and KCl (triangles) when the response magnitude for 0.1M NaCl was taken as unity (1.0) (left) and intensity-response relationship for the anodal current stimulation with 0.001M NaCl in the bathing medium when the response magnitude for 15 μ A was taken as unity (1.0) (right) before (open symbols) and after (closed symbols) the amiloride treatment.

II. プロカイン舌処理による応答抑制効果

膜電位依存性 Na^+ チャネルの阻害剤として知られる局所麻酔薬のプロカイン²⁶⁻²⁹⁾ 舌処理による電気化学兩種刺激に対する応答の抑制効果の選択性について調べた。

Fig. 4 は1%塩酸プロカインで10分間舌処理した時の鼓索神経全線維舌の各刺激に対する積分応答例を示し, Fig. 5 は処理前の応答に対する処理後の各刺激の相対応答値 (%) を示す。プロカイン10分間舌処理では, 電気刺激に対する応答だけ

が顕著に抑制され, 10例の平均値でコントロールの43.8%のレベルまで応答は減少した (t-test, $P < 0.05$)。それに対し, プロカイン30分間舌処理の場合, 電気刺激に対する応答だけでなく0.02M塩酸キニーネ, 0.1M NaCl, 5°C冷水に対する応答もそれぞれ有意に抑制された (t-test, $p < 0.05$)。Fig. 6 は1%プロカイン10分間舌処理前後の化学刺激の NaCl の濃度応答曲線と Na メディウムでの電気刺激の強度応答曲線を示す。化学刺激の NaCl 応答は, 0.001~1.0Mの濃度範囲において

Fig. 4 Integrated chorda tympani responses of a rat to four taste stimuli (0.1 M NaCl, 0.1 M HCl, 0.5M sucrose, 0.02M quinine-HCl) and the anodal current stimulation with 0.001M NaCl in the bathing medium (at $15\mu\text{A}$) and cold stimulation with 5°C distilled water before (control) and after 10 minutes treatment (10 min. treat.) and 30 minutes treatment (30 min. treat.) of 1 % procaine applied to the tongue.

Fig. 5 Mean percent responses (control=100%) of the chorda tympani nerve to chemical, electrical and cold stimulations after 1% procaine treatment for 10min (open columns) and 30min (striped columns). Vertical bars indicate SDs.

* : t-test, $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$.

Fig. 6 Concentration-response relationship for NaCl when the response magnitude for 0.1 M was taken as unity (1.0) (left) and intensity-response relationships for the anodal current stimulation with 0.001 M NaCl in the bathing medium when the response magnitude for 15 μ A was taken as unity (1.0) (right) before (open symbols) and after (closed symbols) the lingual treatment of 1 % procaine for 10 min.

Fig. 7 Mean percent responses (control=100%) of the chorda tympani nerve to anodal current stimulations with 0.001 M NaCl, 0.001 M KCl, 0.001 M CaCl₂, 0.0001 M HCl in the bathing medium after the lingual treatment of 0.1, 0.5 and 1.0 % procaine for 10 min. A figure in each parenthesis shows the number of animals used in each experiment. Vertical bars indicate SDs.

* : t-test, $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$.

変化が認められなかったが、電気刺激の応答は2.5～30 μ A の範囲でそれぞれコントロールの40～60 %レベルに減少し応答抑制効果が認められた。

応答抑制効果の選択性が高かった10分間舌処理における電気刺激のメディウムとプロカインの濃度を変えた時の応答の抑制効果の大きさを比較した。Fig. 7に示すようにコントロールに対する

相対応答値は、Na メディウムで最も大きく減少し、次いでK メディウム、Ca メディウム、H メディウムの順であり、減少の大きさは処理したプロカイン濃度に依存していた。応答の減少が統計的に有意であったのは、1.0%プロカイン舌処理後のNa, K, Ca の各メディウムでの電気刺激の場合だけであった (t-test, $P < 0.05$)。

Fig. 8 Integrated chorda tympani responses of a rat to the four taste stimuli (0.1 M NaCl, 0.01 M HCl, 0.5M sucrose, 0.02M quinine-HCl) and the anodal stimulation with 0.001 M NaCl in the bathing medium (at $15\mu\text{A}$) and cold stimulation with 5°C distilled water before (Control) and after (TTX) the treatment of $1\mu\text{M}$ TTX applied to the tongue for 10 min.

III. テトロドトキシン (TTX) 舌処理による応答抑制効果

電気刺激に対する応答を選択的に抑制したプロカインは、膜電位依存性 Na^+ チャネルの阻害剤であるが、その Na^+ イオンに対する選択性は厳密なものではないとされている。そこで本実験では、より特異的な Na^+ チャネル阻害剤として知られている テトロドトキシン^{22,29)} 舌処理による応答抑制効果について検討した。

Fig. 8 は $1\mu\text{M}$ TTX 10分間舌処理前後の鼓索神経全線維束の各刺激に対する積分応答を、Fig. 9 は処理前の応答に対する処理後の各刺激の相対応答値を示す。応答の変化は、1%プロカイン10分間舌処理のときと極めて類似しており、 $1\mu\text{M}$ TTX 10分間処理により電気刺激に対する応答のみがコントロールの約65%まで減少した。この応答の減少は統計的に有意であった (t-test, $P < 0.05$)。また応答は舌洗浄開始後約15分ではほぼコントロールレベルまで回復し、プロカイン舌処理の場合と比べ、応答の抑制効果も若干弱く (プロカイン10分処理の場合、コントロールの約44%) 応答の回復時間も早い (プロカイン10分処理で30分) ことが分かった。電気刺激に対する応答抑制

Fig. 9 Mean percent responses (control=100%) of the chorda tympani nerve to chemical, electrical and cold stimulations after the TTX treatment for 10 min. Vertical bars indicate SDs.

* : t-test, $P < 0.05$.

効果は刺激に用いるメディウムによって異なり、 $\text{NaCl} > \text{KCl} > \text{CaCl} > \text{HCl}$ の順であり (Fig. 10)、プロカイン舌処理の場合と全く等しいことが分か

Fig. 10 Mean percent responses (control=100%) of the chorda tympani nerve to anodal stimulations with 0.001 M NaCl at 15 μ A in the bathing medium after the lingual treatment of the TTX for 10 min. Vertical bars indicate SDs.

*: t-test, $P < 0.05$.

った。TTX による応答抑制効果は、用いた電気刺激強度2.5~30 μ A のすべての範囲にわたっておこり、化学刺激に用いた NaCl に対する応答は0.001~1.0Mの濃度範囲で抑制効果が認められなかった (Fig. 11)。

IV. 単一鼓索神経線維の応答の解析 (アミロライド, TTX 舌処理による応答抑制効果)

鼓索神経全線維の積分応答の解析から、電気刺激に対する受容メカニズムは化学刺激の受容メカニズムと共通するアミロライド感受性の受動的 Na^+ チャンネルを介するもの、電気刺激に特異的な TTX の膜電位依存性 Na^+ チャンネルを介するもの、そしてそれ以外のメカニズムの少なくとも3種のメカニズムが関与することが明らかとなった。しかし、鼓索神経全線維束からの記録では、化学刺激に対する応答と電気刺激に対する応答が同一の神経線維上で起こったものかどうか明らかではない。化学刺激と電気刺激に対する応答が、それぞれ全く異なる神経線維で起こっているのであれば受容メカニズムも全く異なっていることが考えられる。そこでその点を明らかにするため、化学・電気両種刺激に対する単一鼓索神経線維の

Fig. 11 Concentration-response relationship for NaCl when the response magnitude for 0.1 M was taken as unity (1.0)(left) and intensity-response relationship for the anodal current stimulation with 0.001M NaCl in the bathing medium when the response magnitude for 15 μ A was taken as unity (1.0) (right) before (open symbols) and after (closed symbols) the lingual treatment of the TTX for 10min.

Fig. 12 Left: Single fiber responses of a rat to chemical tongue stimulations (C. S.) with 0.1M NaCl (Na), 0.1M KCl(K), 0.01M HCl (H) and electrical stimulations (E. S.: $15\mu A$) with 0.001M NaCl (Na), 0.001M KCL (K), 0.0001M HCl (H) in the bathing medium before (control) and after (TTX) the treatment of TTX applied to the tongue for 10min.

Right: Responses of the same fiber to the same chemical and electrical stimulations after the treatment of amiloride to the tongue for 2 min, which were obtained after the recovery from the TTX treatment.

応答のアミロライド、TTX 舌処理による抑制効果について検討した。

Fig. 12はサンプルした32本の単一鼓索神経線維のうち1本の応答記録例を示す。この線維は、化学刺激では NaCl によく応答し、KCl, HCl に対してはわずかな応答を示すが、電気刺激では K, H メディウムの時も Na メディウムとほぼ同程度の応答を示し、化学刺激に対する応答で見られたような顕著なイオン特異性はないことが分かる。TTX 10分間舌処理後、化学刺激に対する応答には変化が見られないが、電気刺激に対する応答では特に Na メディウムの場合、刺激直後の応答が顕著に抑制されている。応答回復後、次にアミロライドで2分間舌処理すると電気刺激に対する応答は変化なく、化学刺激の NaCl に対する応答が抑制された。この例ではアミロライドによ

る応答の抑制効果が化学刺激と電気刺激で明らかに異なっており、鼓索神経全線維束の積分応答では見い出されなかった新たなメカニズムの存在が示唆された。すなわち、アミロライド感受性メカニズムは、化学・電気両種刺激に対する応答を共に抑制するものと、化学刺激に対する応答だけを抑制するものとの少なくとも2種存在するものと思われる。

サンプルした32本の単一線維は、Na メディウムの電気刺激に対する応答がアミロライドによってのみ抑制された（刺激後5秒間のインパルス数の有意の減少: t-test, $P < 0.05$ ）ものが10本、TTX によってのみ抑制されたものが10本、アミロライドと TTX 共に抑制されたものが2本、アミロライドと TTX のどちらにも抑制されなかったものが10本であった。従って、アミロライドで抑制さ

Fig. 13 Mean percent responses (control=100) of 32 single chorda tympani fibers to chemical stimulations (C. S.) with 0.1M NaCl (Na), 0.1M KCl (K), 0.1M CaCl_2 (Ca), 0.0001 M HCl (H) and electrical stimulations (E. S.: 15 μ A) with 0.001M NaCl (Na), 0.001 M KCl (K), 0.001 M CaCl_2 (Ca), 0.0001 M HCl (H) in the bathing medium after the lingual treatment of the TTX (open columns) for 10 min and the amiloride (striped columns) for 2 min. *: t-test, $P < 0.05$, **: $P < 0.01$.

れた (アミロライド感受性)線維, TTX で抑制された (TTX 感受性) 線維はオーバーラップしているものを加えると共に 12本づつであった。化学刺激の NaCl に対する応答は TTX では抑制されず, 32本のうち16本はアミロライドによって抑制されたが, そのうち4本は Fig. 12の例にみられるように, Na メディウムの電気刺激に対する応答がアミロライドによって抑制されなかった。

Fig. 13は TTX 及びアミロライドの応答抑制効果のイオン選択性について示したものである。単一線維32本の各種刺激に対する薬物処理前の平均応答頻度を100とした時の処理後の平均スパイク数を%で示した。アミロライド舌処理では化学刺激の Na 応答がコントロールの約45% (t-test, $P < 0.01$), 電気刺激の Na メディウムの応答は約65% (t-test, $P < 0.05$) で有意に減少を示し, 他のイオン種の応答の減少は有意ではなかった。TTX 舌処理の場合は電気刺激の Na メディウムの応答のみが有意に減少し, 化学刺激に対する応答には変化がなかった。このようにこれら2種

Ami-sensitive units

TTX-sensitive units

Fig. 14 Mean numbers of impulses for 5 sec of 12 amiloride-sensitive and 12 TTX-sensitive single chorda tympani fibers of rats to anodal current stimulations with 0.001 M NaCl (Na), 0.001 M KCl (K), 0.001 M CaCl_2 (Ca), 0.001 M HCl (H) in the bathing medium before (open columns) and after (striped columns) the lingual treatment of the amiloride for 2 min and the TTX for 10 min. Vertical bars indicate S.Ds.

***: t-test, $P < 0.001$.

の薬物のいずれも Na イオンに対する選択性があることが分り, 鼓索神経全線維束の積分応答の解析とほぼ一致していた。

Fig. 14は電気刺激の Na メディウムの応答がアミロライド, TTX のそれぞれに抑制された各12本の神経線維の各メディウムを用いた電気刺激に対する平均スパイク数をみたものであるが, アミロライド, TTX のいずれの場合も Na メディウムの応答だけに有意の減少が認められた (t-test, $P < 0.001$)。

次に 32本の単一鼓索神経線維の応答プロファイルについて調べた。Fig. 15は薬物処理前の4種の化学刺激 (コラム) 及び4種のメディウムの電気

Fig. 15 Response profile (numbers of impulses for 5 sec) of 32 single chorda tympani fibers (A-f) of rats to the chemical stimulations with 0.1 M NaCl, 0.1 M KCl, 0.1 M CaCl₂, 0.01 M HCl (columns) and the electrical stimulations with 0.001 M NaCl, 0.001 M KCl, 0.001 M CaCl₂, 0.0001 M HCl in the bathing medium (circles) before the drug's treatment.

Each striped column or filled circle indicates the maximum responses for each fiber to chemical or electrical stimulation. Twelve chorda tympani fibers (A-L) showed suppression of their responses to electrical stimulations with NaCl by the amiloride treatment (a filled bar). Twelve chorda tympani fibers (K-V) showed suppression of their responses to electrical stimulations with NaCl by the TTX treatment (a dotted bar). Sixteen chorda tympani fibers (A-P) showed suppression of their responses to chemical stimulations with NaCl by the amiloride treatment (an open bar).

刺激（丸）に対する刺激後5秒間のインパルス数を示す。縦線のコラム、黒丸はそれぞれ4種のうちの最大応答値を表す。A～Lの12本の線維はNaメディウムの電気刺激に対する応答がアミロライドによって抑制されたもので、化学刺激、電気刺激ともにNaCl高感受性である。K～Vの12本の線維は、Naメディウムの電気刺激に対する応答がTTXによって抑制されたものであるが、その化学・電気両種刺激に対する応答特性は均一ではない。W～fの10本の線維は、電気刺激に対する応答がアミロライド、TTXで抑制されなかったものである。これらの線維はいずれも、

化学刺激のHClに対して高い感受性をもつが、電気刺激に対する応答はほとんどのイオン種でほぼ同じ大きさであり、イオン非特異的な応答を示す特徴をもっていた。A～Pの16本が、化学刺激のNaClに対する応答がアミロライドによって抑制された線維であるが、いずれもNaCl高感受性である。M～Pの4本が、アミロライドによる抑制が化学刺激のNa応答だけにあらわれた線維であるが、これらはいずれも電気刺激のNaメディウムの応答がTTXで抑制されたものであった。

Fig. 16は、化学刺激と電気刺激のイオン特性

Fig. 16 Correlation between responses to chemical stimulations with NaCl and electrical stimulations with NaCl in bathing medium in 12 amiloride-sensitive single chorda tympani fibers (left) and those in 12 TTX-sensitive fibers (right). r : Pearson-product moment correlation coefficients. Significant level of correlation coefficients. $***$: $P < 0.001$.

について見たものであるが、アミロライド感受性の12本の線維は電気刺激のNaメディウムの応答と化学刺激のNaCl応答の大きさが相関している ($r = 0.973$, $P < 0.001$)のに対し、TTX感受性の線維では両者は全く相関していないことが分かった ($r = 0.330$, $P < 0.05$)。

考 察

A. アミロライド感受性メカニズムの関与

利尿剤として用いられるアミロライドは、種々の上皮細胞の受動的 Na^+ 輸送を阻害する薬物として知られている¹⁶⁻¹⁹。

近年、DeSimoneのグループ^{18,19,30,31}によってこの薬物が、イヌ、ラットの舌上皮の高張NaCl溶液に対するショートサーキットカレントを抑制し、またラット鼓索神経のNaClに対する応答を選択的に抑制することなどが報告され、塩味の発現機序にアミロライド感受性 Na^+ チャンネルが関与している可能性が示唆された。ついでSchiffmanら³²によって、ヒトの舌をアミロライドで処理すると塩味の発現機序が抑制されることが確認され、その後、ラット³¹、ジャービル³³、ハムスター³⁴の鼓索神経で、アミロライドがNaCl応答を選択的に抑制することが明らかとされた。しかし、マドバピー³⁵では抑制効果自体がみられな

く、カエル³⁶ではNa特異的な抑制効果がないと報告されている。

本実験では、ラットの舌をアミロライドで処理すると、鼓索神経の陽極刺激に対する応答が抑制されることが明らかとなった。化学刺激に対する応答の抑制効果もKClに比べて、0.03~0.3Mの範囲でNaClに特異的であり、陽極刺激の場合もNaメディウムを用いた時の応答が最も強く抑制された。この結果は、アミロライド感受性メカニズムが、化学・電気両種刺激に対する応答の発現メカニズムに共通して少なくとも一部関与していることを示唆しており、そのメカニズムは、受動的 Na^+ チャンネルを介するものであると思われる。しかし、単一鼓索神経線維の応答の抑制効果を解析すると、アミロライドによって化学刺激のNaClの応答は抑制されるが、NaClをメディウムとした陽極刺激の応答が抑制されない線維が存在することが明らかとなり、化学刺激のNaClの応答のみを抑制する他のアミロライド感受性メカニズムの存在が示唆された。

Nakamura & Kurihara³⁷ は、ラットの舌のアミロライド処理による鼓索神経のNaCl応答の変化を、温度応答特性の関係から調べ、アミロライド感受性メカニズムが2種存在することを見だし、それらは、NaClに対する応答閾値から味

受容膜を境にしての Na^+ の平衡電位が -30mV と -85mV 付近になると思われる 2 種の NaCl 応答のコンポーネントのそれぞれに影響を与えるだろうことを報告している。ラット味細胞の静止電位は $-30 \sim -50\text{mV}$ である^{38,39)}とすれば、前者のコンポーネントに関与するアミロライド感受性メカニズムは、 Na^+ イオンの受動的移動に関係すると考えることができるが（脱分極応答を示すので）、後者のコンポーネントに関与するアミロライド感受性メカニズムは、受容膜を介する Na イオンの移動には無関係のもので、おそらく受容膜の Na 受容サイトに何らかの影響を与えるものであることが考えられる。本実験結果の示す、2 種のアミロライド感受性メカニズムもそれによく対応している。

B. プロカイン感受性メカニズムの関与

局所麻酔薬は、一般に細胞の膜電位依存性 Na^+ チャネルの阻害剤として働くことが知られている²⁶⁻²⁹⁾が、ヒトの舌表面に与えると、痛覚、苦味、塩味、酸味、触覚の順に感覚が消失することが報告されている²¹⁾。また、カエルの味細胞においても、プロカイン舌処理によって塩酸キニーネに対する応答の方が、 HCl に対する応答よりも顕著に抑制されることが報告されている²³⁾。本実験では、ラットの舌のプロカイン10分間処理によって、陽極刺激に対する鼓索神経応答が抑制され、他に化学刺激（4基本味溶液）に対する応答は抑制されないことが明らかとなった。しかし、このプロカインによる抑制効果は、用いるプロカインの濃度と処理時間によって変化し、1%プロカイン30分間舌処理においては、陽極刺激に対する応答のみならず、0.1M NaCl 、0.02M塩酸キニーネ、冷刺激に対する応答も抑制された。局所麻酔剤の作用機序として、細胞脂質膜を介して細胞内に入り、内側から Na^+ チャネルを阻害することが考えられていること²⁶⁻²⁹⁾から、プロカインが味細胞内に流入すれば、受容膜側のみならず、シナプス部位の膜周辺にも影響を与える可能性もある。従って、さらに濃度、処理時間を増加させれば、いずれはすべての刺激に対する応答も抑制されるものと考えられる。Ozeki & Noma²²⁾ は、ラットの舌に0.5%プロカインを30分間処理すると、 NaCl

や塩酸キニーネに対する応答は抑制されず、 HCl に対する応答が抑制され、シュクロースに対する応答は逆に増強されるとのべており、本実験結果とは相反する結果を示している。しかし、彼らの報告では例数は示されておらず、統計学的検索も行われていないため、本実験結果比較することは難しい。Tateda & Beidler¹⁵⁾ はラットの舌を1.0%コカインで1分間処理すると、各種濃度の NaCl に対する味細胞膜電位が脱分極応答から過分極応答に変化することを示している。

また本実験結果は、陽極刺激に用いた4種のメディウムの中で Na メディウムの応答が、プロカイン処理後最も顕著に抑制されており、プロカインの効果は、特定の処理条件下で Na^+ イオンに特異的である。しかし、化学刺激の NaCl 応答は変化がないことから、プロカイン感受性のメカニズムを介する系は、電気味覚の発現に特異的であり、化学性味覚の発現機序には全く含まれないものであることが示唆された。

C. TTX 感受性メカニズムの関与

TTX は局所麻酔薬と同様に膜電位依存性の Na^+ チャネル阻害剤であるが、その阻害効果のイオン特異性は、局所麻酔薬よりも著しく高いことが知られている。

本実験では、電気性味覚の発現に関与するプロカイン感受性メカニズムが、膜電位依存性 Na^+ チャネルを介するものであるかを確かめるため、TTX 舌処理によるラット鼓索神経応答の変化について調べた。その結果、TTX 舌処理は、化学刺激に対する応答は変化せず、陽極刺激に対する応答だけを抑制した。しかも TTX は、陽極刺激に用いた4種のメディウムの中で Na メディウムの応答を最も顕著に抑制し、プロカイン舌処理の場合とほぼ同様の Na^+ イオン特異性を示すことがわかった。また、単一鼓索神経線維の応答を調べると、TTX で陽極刺激の応答が抑制される線維は、全体の約38% (12/32本)であり、しかもそれらの線維の応答性は、化学刺激の NaCl に対する応答性と全く無関係であり、各神経線維の電気刺激に対する応答だけを抑制することがわかった。TTX 舌処理によっても化学刺激の応答が変化しないということは、TTX が神経線維に直

接働いたのではなく、味細胞に働いたことを示している。しかも TTX 舌処理後、舌洗浄を開始し約15分後には陽極刺激の応答がほぼ元のレベルに回復することや、TTX による抑制効果がイオン特異的であることを考えると、TTX の作用受容膜側（タイトジャンクションよりも上側）にある可能性が高い。Ozeki & Noma²²⁾ は、カエルの舌を TTX で処理すると、味細胞の味刺激に対する脱分極応答は変化しないが、舌咽神経の味応答は抑制されるとし、TTX は神経に直接作用することが考えられると述べている。この結果は、ラットにおける本実験結果とは異なっている。しかし、本実験における TTX 舌処理条件では、化学刺激に対する応答は抑制されないことから、舌咽神経の味応答が抑制される Ozeki & Noma のカエルの例とは処理効果が異なり、味蕾周辺の構造上の種差などから同一処理時間でもラットの方がカエルよりも薬物が味覚器に作用し難くなっている可能性が考えられる。TTX 感受性メカニズム、すなわち膜電位依存性 Na^+ チャネルが存在することは、最近、カエル^{20,40)} マッドパピー⁴¹⁾ で報告されている。カエルの場合は、味細胞内に与えた陰極刺激の off 応答として、マッドパピーの場合は単離味細胞の細胞内に陽極刺激を与えた時の応答として、いずれも活動電位が発生し、その電位は TTX 舌処理によって抑制された。この TTX 感受性 Na^+ チャネルの存在部位については最近 apical と basolateral の両部分に存在するという報告がある^{42,43)}。

D. アミロライドおよび TTX 抵抗性メカニズムの関与

ラット鼓索神経全線維束の陽極刺激に対する応答は、アミロライド、プロカインあるいは TTX 舌処理によって完全に消失するわけではなく、アミロライドでコントロールの 70%、プロカインで 40~60%、TTX で約 65% まで応答の減少が認められたにすぎない。プロカインと TTX の関与するメカニズムは、先に述べたように、共に膜電位依存性 Na^+ チャネルを介するもので共通するとすれば、陽極刺激に対する応答の発現機序には、アミロライド、TTX 感受性メカニズムの両メカニズム以外の第 3 のメカニズムの関与を考え

なければ応答全体を説明することは出来ない。そこで、本実験ではさらに単一鼓索神経線維の応答を調べたところ約 30% (10/32 本) の線維において、アミロライド、TTX 舌処理によっても陽極刺激の応答が変化しないことがわかり、これらの線維の陽極刺激の応答発現には、アミロライド、TTX 抵抗性の第 3 のメカニズムが関与していることが示唆された。この 10 本の線維は、化学刺激に対しては HCl に高感受性の特徴があり、他の塩類に対して応答を示し、電解質味刺激に広い感受性を有しており、また陽極刺激においてはメディウムによる応答性が極めて少なく、イオン非特異的な応答特性を持っていた。このメカニズムが、電気性味覚に特異的なものであるか、あるいはその味細胞における存在部位は受容膜側であるのかシナプス膜側であるのか、現時点では全く不明である。提唱されている電気性味覚の成因の 3 つの仮説のうちの 1 つである“味細胞のシナプス部位に電流が流れ込みシナプス伝達を起こす”という考え方は、このイオン非特異的な応答特性を矛盾なく説明する。しかし、その際に味細胞膜に流れると思われる電流を運ぶイオン種は、刺激に用いたメディウム以外のものなのか、そのイオンはどのチャネルを通るものなのか、といった点が新たな疑問となる。最近、Kinnamon & Roper⁴⁴⁾ はマッドパピーの単離味細胞の応答を調べ、 KCl あるいは酸刺激による脱分極応答は受容膜側にある膜電位依存性の K^+ チャネルのコンダクタンスを減少させることによってもたらされると報告している。もしこの膜電位依存性 K^+ チャネルが、ラットの味細胞にも存在するのであれば、そのコンダクタンスの減少は陽極刺激にもメディウム非特異的に起こりうるが、通常、陽極刺激の際に誘発される酸味の発現とも関連する可能性がある。この K^+ チャネルの存在の有無、あるいはその電気性味覚発現への関与については、今後さらに検討する必要がある。

Bujas ら¹²⁾ は、ヒトの舌に種々のメディウムの陽極刺激を行い、誘発される味覚を調べたところ、メディウムの種類に関係なく誘発された味は酸味であったと報告している。また、陽極刺激と電解質溶液との交叉順応効果を調べると、舌に NaCl

を与えたあとに最も大きな順応効果が生じると述べている。本実験結果から、陽極電気刺激の応答発現にアミロライド感受性、TTX 感受性の Na^+ チャネルだけでなく第3の Na^+ イオン非特異的な特徴をもつメカニズムも関与しており、電気刺激で誘発される味覚が化学刺激の場合と異なる可能性も充分考えられる。

Ninomiya & Funakoshi⁴⁵⁾ は、ラットの単一鼓索神経線維の電気刺激に対する応答性は多様であり、陽極刺激にだけ応答を示すもの (Type A 線維)、陽極、陰極刺激共に応答を示すもの (Type B 線維)、陰極刺激だけに応答を示すもの (Type C 線維) が存在することを報告している。本実験においても、アミロライド感受性、TTX 感受性の線維、アミロライド、TTX 抵抗性の線維が存在することが明らかとなり、それぞれの線維の支配する味細胞には上記のメカニズムが不均一に存在し、味細胞固有の電気的性質をもたらす、化学刺激に対する応答性と電気刺激に対する応答性が必ずしも一致しない結果となっていることが考えられる。したがって、電気性味覚の発現には、少なくとも3種の異なるメカニズムが関与しており、舌上のイオン種が化学刺激の場合と同じであっても、電気刺激により化学刺激の場合よりも多くの神経線維がより非特異的に応答する可能性が高い。ある程度特異的な線維の興奮を伴う化学性味覚の場合とは異なって、電気性味覚は非特異的な線維の興奮によって誘発されているものと思われる。

結 論

ラット鼓索神経の化学・電気両種刺激に対する味覚応答の、アミロライド、プロカイン、TTX な

ど Na^+ チャネル阻害剤舌処理による抑制について検討し、以下のような結果を得た。

① 受動的 Na^+ 輸送を抑制するアミロライド舌処理により、 NaCl 溶液による化学刺激と Na メディウムの電気刺激に対する鼓索神経束の応答が抑制された。

② 単一鼓索神経線維には、アミロライド舌処理により化学刺激と電気刺激に対する応答が、ともに抑制されるもの、化学刺激に対する応答だけが抑制されるもの、応答に全く変化が認められないものが存在した。

③ Na^+ チャネル阻害効果を有する局所麻酔薬プロカイン舌処理により、電気刺激に対する鼓索神経束の応答が著明に抑制された。

④ 膜電位依存性 Na^+ チャネル阻害剤 TTX 舌処理においても、電気刺激に対する鼓索神経束の応答だけが選択的に抑制された。

⑤ 単一鼓索神経線維には TTX 舌処理により電気刺激に対する応答だけが抑制されるものと、応答に全く変化が認められないものが存在した。

以上の結果より、電気性味覚の発現には、化学性味覚と共通するアミロライド感受性 Na^+ チャネルと、電気性味覚に特異的な TTX 感受性 Na^+ チャネルを介するメカニズムと、アミロライド・TTX 抵抗性の少なくとも3種のメカニズムが関与することが明らかとなった。

稿を終わるにあたり、本研究に終始御懇篤な御指導と御校閲を賜りました朝日大学歯学部口腔生理学教室船越正也教授に深く感謝いたします。また、本研究の遂行に終始御指導と御助言を賜りました同教室二ノ宮裕三助教授に心より感謝の意を表します。そして、種々御協力いただいた教員各位に、心より御礼申し上げます。

抄録：電気性味覚の発現機序を明らかにする目的で、ラット鼓索神経の化学電気両種刺激に対する味覚応答の、 Na^+ チャネル阻害剤 (アミロライド、プロカイン、TTX) 舌処理による抑制効果について比較検討した。アミロライド舌処理によって、0.1M NaCl 溶液による化学刺激と、0.001M Na メディウムの電気刺激に対する鼓索神経束の応答が、 Na^+ イオン特異的に抑制された。プロカインや TTX による舌処理でも、0.001M Na メディウムの電気刺激に対する応答は抑制された。このようなアミロライドや TTX による、 Na^+ イオン特異的あるいは電気刺激特異的な応答抑制は、単一鼓索神経線維のうちそれぞれ約30~50% 線維においても認められた。これらの結果は、アミロライド感受性 Na^+ チャネルあるいは TTX 感受性 Na^+ チャネルを介するメカニズムとそれらの Na^+ チャネルを介さないメカニズムの3つが、電気性味覚の発現機序に関与していることを示唆している。

文 献

- 1) Sulzer, M. : Recherches sur l'origine des sentiments agréables et désagréables, Troisième partie : Des plaisirs des sens, Histoire de l'académie des sciences et belles lettres de Berline, 1752, Quoted form : Bujas, Z. : Electric taste, In : Handbook of Sensory Physiology, 4, Chemical Senses, Pt. 2, Taste, ed by Beidler, L. M., Springer-Verlag, Berlin, pp. 180-199, 1971.
- 2) Bujas, Z. : Electric taste, In : Handbook of Sensory Physiology, 4, Chemical Senses, Pt. 2, Taste, ed, by Beidler, L. M., Springer-Verlag, Berlin, pp. 180-199, 1971.
- 3) 三吉康郎, 吉浦鎮二, 木村知郎, 中根英晴 : 臨床味覚検査法の1つとして電気性味覚検査法 Krarup 氏法の検討. 日耳鼻誌 71 : 1477-1483, 1968.
- 4) 富田 寛, 少名子正彬, 山田 登, 都川紀正 : 電気味覚計 (Elgustometer)-2, 3 の基礎的問題一. 日耳鼻誌 72 : 868-875, 1969.
- 5) 富山紀彦, 富田 寛, 奥田雪雄 : 電気味覚の正常値. 日耳鼻誌 74 : 1580-1587, 1971.
- 6) 富田 寛 : 味覚の臨床. 日耳鼻誌 79 : 1267-1271, 1976.
- 7) Krarup, B. : Electro-gustometry : a method for clinical taste examinations. Acta Oto-larung. 49 : 294-305, 1958.
- 8) Smith, D. V. and Bealer, S. L. : Sensitivity of the rat gustatory system to the stimulus onset. Physiol. Behav. 15 : 303-314, 1975.
- 9) Ninomiya, Y. and Funakoshi, M. : Role of ions in generation of taste nerve responses to electrical tongue stimulation in rats. Jpn. J. Physiol. 31 : 891-902, 1981.
- 10) Herness, M. S. : Neurophysiological and biophysical evidence on the mechanism of electric taste. J. Gen. Physiol. 86 : 59-87, 1985.
- 11) Kashiwayanagi, M., Yoshii, K., Kubotaka, Y. and Kurihara, K. : Taste transduction mechanism, Similar effects of various modifications of gustatory receptors on neural responses to chemical and electrical stimulation in the frog. J. Gen. Physiol. 78 : 259-275, 1981.
- 12) Bujas, Z., Ajduković, D. and Mayer, D. : Psychophysical investigations of taste effects provoked by simultaneous application of taste solutions and electric current. Acta Biol. 50 : 1-21, 1984.
- 13) Ninomiya, Y., Mizukoshi, T., Nishikawa, T. and Funakoshi, M. : Ion specificity of rat chorda tympani fibers to chemical and electrical tongue stimulations. Brain Res., 404 : 350-354, 1987.
- 14) Ninomiya, Y. and Funakoshi, M. : Amiloride inhibitions of responses of rat single chorda tympani fibers to chemical and electrical tongue stimulations. Brain Res. 451 : 319-325, 1988.
- 15) Tateda, H. and Beidler, L. M. : The receptor potential of the taste cell of the rat. J. Gen. Physiol. 47 : 479-486, 1963.
- 16) Benos, D. J. : Amiloride : a molecular probe of sodium transport in tissue and cells. Am. J. Physiol. 242 : c 131-c 145, 1982.
- 17) Biber, T. V. L. : Effect of changes in trans-epithelial transport on the uptake of sodium across the outer surface of the frog skin. J. Gen. Physiol. 58 : 131-144, 1971.
- 18) DeSimone, J. A., Heck, G. L. and DeSimone, S. K. : Active ion transport in dog tongue : a possible role in taste. Science 214 : 1039-1041, 1981.
- 19) DeSimone, J. A., Heck, G. L., Miereson, S. and Desimone, S. K. : The active ion transport properties of canine lingual epithelia *in vitro*. J. Gen. Physiol. 83 : 633-656, 1984.
- 20) Kashiwayanagi, M., Miyake, M. and Kurihara, K. : Voltage-dependent Ca^{2+} channel and Na^{+} channel in frog taste cells. Am. J. Physiol. 244 : c82-88, 1983.
- 21) Moncrief, R. W. : The Chemical senses, 2nd edn., Leonard Hill Ltd., London, p. 159, 1951.
- 22) Ozeki, M. and Noma, A. : The actions of tetrodotoxin, procaine and acetylcholine on gustatory receptors in frog and rat. Jpn. J. Physiol. 22 : 467-475, 1972.
- 23) Akaike, N. and Sato, M. : Effects of local anesthetics on frog taste cell response. Jpn. J. Physiol. 25 : 585-597, 1975.
- 24) Hellekant, G., Aronsson, T. and Carlbom, U. : Taste-o-matic : an advanced device for taste stimulation, In : Olfaction and Taste, vol. 7, ed. by van der Starre, H. IRL Press, London and Washington, p203, 1980.
- 25) Hellekant, G. : Postexcitatory depression of gustatory receptors. Acta Physiol. Scand. 74 : 1-9, 1968.
- 26) Deguchi, T. and Narahashi, T. : Effects of procaine on ionic conductances of end-plate membranes. J. Pharmacol. exp. Ther. 176 : 423-433, 1971.
- 27) Hille, B. : The pH-dependent rate of action of local anesthetics on the node of Ranvier. J. Gen. Physiol. 69 : 475-496, 1977.
- 28) Hille, B. : Local anesthetics : hydrophilic and hydrophobic pathways for the drug re-

- ceptor reaction. *J. Gen. Physiol.* **69** : 497-515, 1977.
- 29) Narahashi, T., Anderson, N. C. and Moore, J. Wm.: Comparison of tetrodotoxin and procaine in internally perfused squid giant axons. *J. Gen. Physiol.* **50** : 1413-1428, 1967.
 - 30) DeSimone, J. A. and Ferrell, F.: Analysis of amiloride inhibition of chorda tympani taste response of rat to NaCl. *Am. J. Physiol.* **249** : R52-61, 1985.
 - 31) Heck, G. L., Mierison, S. and DeSimone, J. A.: Salt taste transduction occurs through an amiloride-sensitive sodium transport pathway. *Science* **223** : 403-405, 1984.
 - 32) Schiffman, S. S., Lockhead, E. and Maes, F. W.: Amiloride reduces the taste intensity of Na⁺ and Li⁺ salt and sweetness: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **80** : 6136-6140, 1983.
 - 33) Jakinovich, Jr. W.: Stimulation of the gerbil's gustatory receptors by methyl glycopyranosides. *Chem. Sens.* **10** : 591-604, 1985.
 - 34) Pfaffmann, C. and Pritchard, T.: Ion specificity of "Electric Taste", In: *Olfaction and Taste*, vol. 7, ed. by van der Starre, H. IRL Press, London, pp. 175-178, 1980.
 - 35) McPheeters, M. and Roper, S. D.: Amiloride does not block taste transduction in the mudpuppy. *Necturus maculosus*. *Chem. Sens.* **10** : 341-352, 1985.
 - 36) Yoshii, K., Kiyomoto, Y. and Kurihara, K.: Taste receptor mechanism of salts in frog and rat. *Comp. Biochem. Physiol.* **85A** : 501-507, 1986.
 - 37) Nakamura, M. and Kurihara, K.: Temperature dependence of amiloride-sensitive and -insensitive components of rat taste nerve response to NaCl. *Brain Res.* **444** : 159-164, 1988.
 - 38) Ozeki, M.: Conductance change associated with receptor potentials of gustatory cells in rat. *J. Gen. Physiol.* **58** : 688-699, 1971.
 - 39) Sato, T. and Beidler, L. M.: The response characteristics of rat taste cells to four basic taste stimuli. *Comp. Biochem. Physiol.* **73A** : 1-10, 1982.
 - 40) Miyamoto, T., Okada, Y. and Sato, T.: Membrane properties of isolated frog taste cells: three types of responsivity to electrical stimulation. *Brain Res.* **449** : 369-372, 1988.
 - 41) Roper, S.: Regenerative impulses in taste cells. *Science* **220** : 1311-1312, 1983.
 - 42) Kinnamon, S. C., Dionne, V. E. and Beam, K. G.: Aaical localization of K⁺ channels in taste cells provides the basis for sour taste transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85** : 7023-7027, 1988.
 - 43) Roper, S. D. and McBride, D. W. Jr.: Distribution of ion channels on taste cells and its relationship to chemosensory transduction: *J. Membrane Biol.* **109** : 29-39, 1989.
 - 44) Kinnamon, S. C. and Roper, S. D.: Membrane properties of isolated mudpuppy taste cells: *J. Gen. Physiol.* **91** : 351-371, 1988.
 - 45) Ninomiya, Y. and Funakoshi, M.: Responses of rat chorda tympani fibers to electrical stimulation of the tongue: *Jpn. J. Physiol.* **31** : 559-570, 1981.