原 著

カルボン酸に対するコイ味神経応答の解析

杉 木 正 史 丸 井 隆 之

奥羽大学歯学部口腔生理学講座（主任：丸井隆之教授）

〔受付：平成7年4月21日；受理：平成7年8月2日〕

Gustatory responses to carboxylic acids in the carp, *Cyprinus carpio* L.

Masafumi Sugiki and Takayuki Marui

Department of Oral Physiology, Ohu University School of Dentistry

(Chief : Prof. Takayuki Marui)

31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, Fukushima 963, Japan

[Received on April 21, 1995 ; Accepted on August 2, 1995]

Key words : taste receptive mechanisms / carboxylic acid / cross-adaptation / electrophysiology / fish

Abstract : The stimulatory effects of carboxylic acids on the external taste receptors of the carp, *Cyprinus carpio* L., were investigated by recording the electrical responses from the trigemino-facial complex nerve innervating the lips and barbels.

The taste receptors responded well to neutralized and water-soluble carboxylic acids with threshold values ranging between 10^{-6} and 10^{-9} M. The stimulatory effectiveness was extremely high for mono- and di-carboxylic acids with 3~5 and 4~6 carbon atoms, respectively. Taste responses to carboxylic acids were rather stereospecific. The carboxyl group is essential for stimulatory effectiveness, amination reduces this effectiveness, and ketonic and hydroxy-carboxylic acids have almost the same effectiveness as the parent chemicals. The results suggest that discharge of the carboxyl group is not necessary to elicit the response. Cross-adaptation experiments revealed that the taste receptive mechanisms for amino and carboxylic acids are independent of each other.

抄録：コイを材料として、顔面神経から味応答を電気生理学的に記録し、カルボン酸に対する味覚感受性や特異性を検討し、またアミノ酸の類似物といえるカルボン酸の受容機構についてアミノ酸のそれと比較検討することを目的として研究を行った。コイの体表部と口腔内前部の味覚を支配している顔面神経は、カルボン酸に対して極めて高い感受性を呈し、その閾値が 10^{-9} M にまで達する化合物があった。顔面神経味応答は、1 価のカルボン酸のうち、分子中の炭素数が 3~5 個であるものに最もよく応答し、2 価では、炭素数が 4~6 個の化合物に最も大きな応答性を示した。また芳香族の安息香酸やサリチル酸、フタル酸にもわずかながら応答を呈した。未置換の 1 価および 2 価のカルボン酸の刺激効果が分子中のどの構造によるものかを知るために、種々の類似物および誘導体を味刺激として試験としてみると、アミノ基は刺激効果を減弱させ、ケト化およびヒドロキシル化はほとんど影響を及ぼさず、カルボキシル基は不可欠であることが判明した。またそれらの水溶液はすべて中性領域であること、ナトリウム塩でも応答性に変化のないことから、カルボキシル基の電荷は必ずしも必要ではな

いと考察された。さらにアミノ酸とカルボン酸の相互順応実験を行ったところ、これら2種の化合物の受容機構は各々独立したメカニズムのものであることが示唆された。

結 言

多くの動物では、一般に化学物質（味覚刺激物質）が生理学的な意味合いで食行動において重要なモデュレーターとしてその役割を果たしている。すなわち、食行動というのは身の周りにある雑多な栄養源から必要性のあるものを選択し摂取する過程と言える。食物中には種々の有機化合物が含まれており、動物の摂餌行動時に栄養物のシグナルとして働き、それぞれ固有の化学感覚の感受性に基づいて選択し食行動を営んでいる。われわれヒトでは“おいしさ”という意味において多種類の有機化合物をシグナルとして、食べるということを楽しんでいる。有機化合物には、糖、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、カルボン酸、核酸関連物質などがある。そうした多くの化合物の中で、例えば旨味として知られるコンブから抽出されるグルタミン酸ナトリウムが代表的な例として挙げられよう。その他にカツオ節に含まれるイノシン酸、未熟なブドウの酸味である酒石酸、酒独特の複雑な酸味を呈するコハク酸やフマル酸、貝類のコハク酸、リンゴのリンゴ酸、ミカンのクエン酸等々、数え上げればきりがなほどの有機化合物が食物中に存在し味覚を楽しませてくれている¹⁾。近年、味覚研究においてそうした有機化合物のうち、アミノ酸が主体となって実験が数多く行われてきたが、その他の有機化合物についてはそれほど研究がなされてきていない。アミノ酸が主として味覚刺激として使われてきた理由は、それらやその類似物あるいは誘導体の化学構造がよく判っているので、味覚を引き起こす活性部位との相関を論じることが可能なため味覚受容機構の解明に有用だと考えられたからである²⁻⁶⁾。しかしながら上記したように、食物中にはアミノ酸ばかりでなくカルボン酸やペプチド、あるいはタンパク質も含まれており、それらの味覚受容についても検討されるべきである。

そこで本研究ではそれらの中でカルボン酸に着目して、その味応答特性を電気生理学的に調べるとともに、すでに多くの研究報告のあるアミノ酸の類似物とも考えられるカルボン酸の受容機構について解析し、アミノ酸受容機構と比較検討することによって、味覚受容機構のさらなる解明を目指すことを目的として実験を行った。

鯉科や鯰科の魚類では、体表部にまで味覚器（味蕾）が膨大な数存在して味覚が特殊に発達している。さらに

その味覚器はアミノ酸に極めて鋭敏に応答し、それらに対する閾値は 10^{-9} ~ 10^{-11} Mにまで達するものがあった²⁻⁶⁾、味覚受容膜がアミノ酸に対して非常に高い親和性をもつことを示している。それゆえ魚類はこうした有機化合物の構造とその受容体の性質を調べるのに好適なモデル動物材料であると考えられ、本研究ではコイを実験動物として使用して実験を行った。

材料と方法

実験材料のコイ（体長15~25 cm, 体重50~120 g）47尾は、鹿児島県水産試験場指宿内水面分場が池田湖で養殖しているものを購入し室内の水槽で飼育し実験に供した。水槽（ $1 \times 1 \times 2$ m³）は水道水を常にオーバーフローさせ新鮮な水を供給し、コイは1日1回養魚用ペレットを与えて飼育した。コイは捕獲後少なくとも1週間水槽で飼育して十分環境に順応させてから電気生理学的実験に使用した。飼育水温は17°C（冬期）~25°C（夏期）であった。

実験にさいしてはコイはMS222 (tricaine methanesulfonate, Sigma grade; 1:8,000希釈)を溶解した水に浸して麻酔した後、パラフィンワックスの固定台に固定しアクリル樹脂製のコンテナ中に置き常時口から鰓へ水道水を灌流して、実験中の生命の維持をはかった。また体表を乾燥させないようにティシュペーパーで覆い、鰓からの灌流水で常に体表面を湿らせておくようにした。

味応答の記録は、丸井ら⁵⁾と隈元⁷⁾と同様な方法で行った。要約すると、眼球を除去して眼窩底を走行する三叉一顔面複合神経を露出させ、その上顎枝または下顎枝を周囲の組織より分離して中枢端を切断して双極の銀-塩化銀電極に載せてのち、神経の乾燥を防ぐためミネラルオイルで覆い全神経束からの味応答を記録した。実験中、コイは筋弛緩剤であるgallamine triethiodide (0.3 mg/kg, 帝国化学産業)を筋注して不動化し、必要に応じて追加投与した。味神経応答は前置増幅器 (AVB-11, 日本光電) で増幅しオシロスコープ (VC-11, 日本光電) で観察しながら積分計 (時定数, 0.6 sec) を介して応答をペンレコーダー (WI-641G, 日本光電) に描画させた。味応答の大きさは、積分応答の基線からピークまでの高さ (mm) を計測して1 mMのL-アラニンに対する応答値を100として換算した相対的な値として表してデータ解析に使用した。味物質の原液は、100または10 mMの濃度で蒸

Fig. 1 Typical integrated taste responses from the ramus mandibularis of the trigemino-facial complex nerve to carboxylic acids at 1 mM.

留水に溶かし、冷蔵庫に保存し1週間以内に使用した。味溶液は実験日毎に水道水で原液を希釈して刺激液として用いた。味溶液は、酸性またはアルカリ性を呈する場合には使用直前に 0.1N の NaOH または HCl で中和し、pH6.8~7.1 に調製して投与した。ただし pH が 1 mM の濃度で 6.3~7.4 の範囲にあった味溶液は調製しないでそのまま使用した。

味刺激を与える方法は、同じく丸井ら⁵⁾と隈元⁷⁾によった。すなわち、受容野に先細のガラス管で常時一定の流速(約 8 ml/分)で水道水(年間を通じて pH6.9±0.2)を流しておき、味刺激を与える時は電磁バルブ(Dura Clean Valve, MCV-3T, 高砂電気)を切り換えて味溶液 0.5 ml を受容野に流し味神経に誘起される味応答を記録した。文献的には味刺激を投与する時間間隔は用いた味物質の種類と濃度により様々であるが^{2,4,5)}、本研究では初めの刺激が次の刺激に影響を及ぼさないように全て 5 分以上の間隔とした。実験精度と効率を上げるため、バルブ操作と電気生理学的機器および記録装置の制御はマイクロコンピュータ(MZ-2000, シャープ)によって行った。

ある味刺激物質が、もう 1 つ別の物質と味覚受容機構を同じくするのかどうかを調べるのに交差順応実験という方法がある。すなわち、1 つの化合物の溶液で味受容膜を順応させておき、別の化合物を刺激として与えた時、もし受容機構が同じであれば受容サイトはすでに順応液に覆われているので応答はしないが、異なるのであれば

応答が観察されるという考え方に基づいた方法である。味受容野は、通常水道水を常時流してその水流中に刺激溶液を流し込んで味刺激を与えている。そこで常時流している水道水を 1 mM のアミノ酸溶液とすれば、受容膜をその化合物で順応させていることになり、また通常と同様にその 1 mM のアミノ酸溶液にカルボン酸を 1 mM の濃度で溶解して試験液として投与すれば交差順応実験ができる。なお本実験では、味溶液はすべて 1 mM の濃度で交差順応試験を行った。

結 果

本実験で味応答を記録した三叉-顔面複合神経は、味神経のみならず体性神経も含んでいる。従って上顎枝や下顎枝の神経束の電気的活動は、先端の細いガラス棒(先端直径 0.5 mm)による皮膚への弱い圧刺激や、味覚受容野へのゆるやかな水流等に極めて鋭敏に反応して興奮する。けれども本実験で使用した味刺激システムでは、常時一定の速度で受容野に水を流し続けていることと、刺激ポート^{5,7)}の緩衝作用により機械的刺激、すなわち味刺激の投与による水流の変化に対する神経応答は完全に消失し、味応答のみが記録できた(Fig. 1, control)。

1. カルボン酸に対する味応答

Figure 1 に代表的な 1 mM の種々のカルボン酸に対する積分応答が例示してある。Figure の上段と下段は、

Fig. 2 Typical integrated responses from the ramus mandibularis upon stimulation of gustatory receptors with glutaric acid at seven different concentrations. L-ala, control response as a standard. Interstimulus intervals at least 5 min. c, response to control tap water.

Table 1 Relative stimulatory effectiveness of 1 mM carboxylic acids on chemoreceptors of carp, represented as a percentage of the response to the standard, 1 mM L-alanine.

Chemicals	Structural formula	Stimulatory effectiveness (%) (mean $\pm$ SD)	Numbers of sample
<u>Aliphatic carboxylic acid</u>			
[Monocarboxylic acid]			
1. formic acid	HCOOH	22.5 $\pm$ 12.2	5
2. acetic acid	CH ₃ COOH	97.4 $\pm$ 24.4	7
3. propionic acid	CH ₃ CH ₂ COOH	128.0 $\pm$ 18.7	7
4. n-butyric acid	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	113.8 $\pm$ 18.9	4
5. n-valeric acid	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH	135.6 $\pm$ 9.8	5
6. caproic acid	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	99.8 $\pm$ 41.7	4
[Dicarboxylic acid]			
1. oxalic acid	HOCCOOH	0	3
2. malonic acid	HOOCCH ₂ COOH	93.2 $\pm$ 46.4	2
3. succinic acid	HOOC(CH ₂) ₂ COOH	259.2 $\pm$ 40.8	2
4. glutaric acid	HOOC(CH ₂) ₃ COOH	350.6 $\pm$ 86.9	2
5. adipic acid	HOOC(CH ₂) ₄ COOH	308.5 $\pm$ 54.0	2
6. pimelic acid	HOOC(CH ₂) ₅ COOH	128.4 $\pm$ 46.6	2
7. tartaric acid	HOOCCHOHCHOHCOOH	59.0 $\pm$ 28.2	6
[Tricarboxylic acid]			
1. citric acid	HOOCCH ₂ C(OH)(COOH)CH ₂ COOH	245.1 $\pm$ 72.6	4
<u>Aromatic carboxylic acid</u>			
1. benzoic acid	C ₆ H ₅ COOH	32.5 $\pm$ 7.8	2
2. salicylic acid	HOC ₆ H ₄ COOH	5.0 $\pm$ 7.0	2
3. phthalic acid	C ₆ H ₄ (COOH) ₂	25.0 $\pm$ 2.8	2

Abbreviation : SD, standard deviation.

それぞれ1価および2価の直鎖のカルボン酸に対する味応答で、中段はその他のカルボン酸に対する応答が示してある。こうした応答を数例記録しまとめたものが

Table 1 である。1価のカルボン酸の未置換の化合物に対する味覚応答の相対的大きさは、n-吉草酸>プロピオン酸>n-酪酸>カプロン酸>酢酸>蟻酸の順序で

Fig. 3 Semi-logarithmic plots of concentration-response relationships of integrated gustatory responses to propionic, lactic, citric, glutaric and glyceric acids. Sample numbers to each chemical were two. STD means the standard response magnitude, which is regarded as 100 for the response magnitude of 1 mM L-alanine.

あった。また2価のカルボン酸の未置換の化合物に対する味覚応答では、グルタル酸>アジピン酸>コハク酸>ピメリン酸>マロン酸の応答値の順序であった。これら2種のカルボン酸の分子中の炭素数が、1価の場合には7個以上、2価の場合には9個以上の化合物は脂溶性となり水に難溶のため実験には使用しなかった。これらのカルボン酸の内、1 mM で最大の応答値を示す (Table 1) 2 価のグルタル酸に対する濃度と味応答の関係が Figure 2 である。Figure から明らかなようにその閾値は 10^{-6} ~ 10^{-7} M の間にあった。Figure 3 に5つのカルボン酸に対する濃度—応答曲線が示してある。いずれも2例の平均値としてプロットがしてある。これらの化合物に対する味閾値は 10^{-9} ~ 10^{-6} M の間にあり、カルボン酸に対するコイの味覚感受性は高いことが判る。コイの味覚器は、その他に2価の酒石酸に味応答性を示すし、3価のクエン酸にも高い味応答を呈した (Table 1)。さらに水溶性の芳香族のカルボン酸についても試験してみると僅かながら応答性が観察された。これらの Table 1 にある化合物について、それぞれの分子中の炭素数と相対的な味覚刺激効果との関係を検討するために、横軸に炭素数、縦軸に味覚刺激効果を取りプロットしてみると Figure 4 のようになった。Figure に明らかなように、1 価のカルボン酸 (●) では、炭素数が3~5の化合物が刺激効果が高く、2 価の化合物 (○) では炭素数が4~6のものが刺激効果が極めて大きいことが判る。Figure 中では、3 価のクエン酸 (◎) と芳香族の化合物 (×) である安息香酸、サリチル酸およびフタル酸もプロット

Fig. 4 Relationships between number of carbon atoms (= chain length) of carboxylic acids and relative stimulatory effectiveness. All chemicals were tested at 1 mM. STD, magnitude of standard response to L-alanine at 1 mM. The number of samples is five in each chemical tested.

Abbreviations: di-c. a., di-carboxylic acid; tri-c. a., tri-carboxylic acid; aromatic c. a., aromatic carboxylic acid.

してある。

2. カルボン酸の類似物あるいは誘導体に対する味応答

カルボン酸の化学構造の一部を換えた化合物、すなわち類似物や誘導体について味覚応答を記録してみた。Table 2 に化学構造の変化による味応答への影響を調べた結果がまとめてある。例えば、酢酸の場合、ヒドロキシル基をもつグリコオキシル酸やグリコール酸、アミノ基をもつグリシンに対する味応答は酢酸の応答値と比べると、ヒドロキシル化は影響を及ぼさないが、アミノ化は応答性を減弱させていることがわかる。★印のついた他のカルボン酸についてもすべての化合物で同様のことが言える。ケト化してケト酸とした化合物(ピルビン酸、ピルビン酸メチルエステル、レブリン酸、 α -ケト-n-吉草酸、 α -ケト-カプロン酸、ケト-マロン酸、そして α -ケト-グルタル酸) の場合にはほとんど味応答に影響を及ぼさなかった (Table 2)。味応答の誘起には Table から明らかなように、カルボキシル基が不可欠であると結論された。すなわちカルボキシル基をアルコール化したグリセロールや L-2-アミノ-1-プロパノールではほとんど応答を引き起こしていない。また未置換の★印のついている化合物のナトリウム塩のすべてについて味応答性を調べたところ、全くカルボン酸の応答値との間に差は認められなかった。

Table 2 Effects of structural changes in carboxylic acids on gustatory responses

Compounds	Structural formula	RRM (%, mean $\pm$ SD)	Numbers of sample
★formic acid	HCOOH	22.5 $\pm$ 12.2	5
★acetic acid	CH ₃ COOH	97.4 $\pm$ 24.4	7
glyoxylic acid	OHCCOOH	76.6 $\pm$ 8.4	2
glycolic acid	OHCH ₂ COOH	89.9 $\pm$ 9.2	6
glycine	NH ₂ CH ₂ COOH	52.1 $\pm$ 12.4	9
★propionic acid	CH ₃ CH ₂ COOH	128.0 $\pm$ 18.7	7
pyruvic acid	CH ₃ COCOOH	128.2 $\pm$ 24.8	4
pyruvic acid-OMe	CH ₃ COCOOCH ₃	138.3 $\pm$ 11.3	2
lactic acid	CH ₃ CH(OH)COOH	173.2 $\pm$ 38.3	5
levulinic acid (β -acetyl-propionic acid)	CH ₃ COCH ₂ CH ₂ COOH	78.9 $\pm$ 6.2	3
acrylic acid (propenic acid)	CH ₂ =CHCOOH	164.3 $\pm$ 0.7	3
DL-glyceric acid	OHCH ₂ CH(OH)COOH	163.7 $\pm$ 63.7	3
glycerol	OHCH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	0	5
L-2-amino-1-propanol	CH ₃ CH(NH ₂)CH ₂ OH	18.3 $\pm$ 6.0	5
★n-butyric acid	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH	113.8 $\pm$ 18.9	4
iso-butyric acid	(CH ₃) ₂ CHCOOH	135.6 $\pm$ 9.8	3
L- α -aminobutyric acid	(CH ₂) ₂ NH ₂ CH ₂ COOH	63.9 $\pm$ 15.1	11
L- γ -aminobutyric acid (GABA)	NH ₂ (CH ₂) ₃ COOH	0	5
4-amino-hydroxy-n- butyric acid	NH ₂ CH ₂ CH(OH)CH ₂ COOH	0	3
★n-valeric acid	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH	84.4 $\pm$ 16.6	5
iso-valeric acid	(CH ₃) ₂ CH ₂ CHCOOH	81.4 $\pm$ 7.3	3
δ -amino-n-valeric acid	NH ₂ (CH ₂) ₄ COOH	26.8 $\pm$ 0.2	2
α -keto-n-valeric acid	CH ₃ (CH ₂) ₃ COCOOH	80.2 $\pm$ 6.8	2
★caproic acid	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	99.8 $\pm$ 41.7	4
ϵ -amino-caproic acid	NH ₂ (CH ₂) ₅ COOH	24.2 $\pm$ 3.0	3
α -keto-caproic acid sodium salt	CH ₃ (CH ₂) ₄ COCOONa	60.0 $\pm$ 0	2
★malonic acid	HOOCCH ₂ COOH	93.2 $\pm$ 46.4	2
keto-malonic acid	HOCCOCOOH	120.0 $\pm$ 0	2
★succinic acid	HOOC(CH ₂) ₂ COOH	259.2 $\pm$ 40.8	2
L-malic acid	HOOCCH(OH)CH ₂ COOH	111.1 $\pm$ 11.6	5
D-malic acid	_____	88.0 $\pm$ 3.0	3
fumaric acid	HOOCCH=CHCOOH	104.6 $\pm$ 4.6	2
★glutaric acid	HOOC(CH ₂) ₃ COOH	350.6 $\pm$ 86.9	2
α -keto-glutaric acid	HOOC(CH ₂) ₂ COCOOH	359.7	1
★adipic acid	HOOC(CH ₂) ₄ COOH	308.5 $\pm$ 54.0	2
α -amino-adipic acid	HOOC(CH ₂) ₃ CH(NH ₂)COOH	301.5	1
★pimelic acid	HOOC(CH ₂) ₅ COOH	128.4 $\pm$ 46.4	2
DL- α -amino-pimelic acid	HOOC(CH ₂) ₄ CH(NH ₂)COOH	67.3 $\pm$ 0.7	2

Abbreviations : RRM, relative response magnitude ; SD, standard deviation ; ★, parent chemical.

Fig. 5 Representative neural records of a cross-adaptation experiment showing the responses of a ramus mandibularis of the trigemino-facial complex nerve to carboxylic acids. (A) Control responses to 1 mM carboxylic acids before adaptation. (B) Responses to the same series of carboxylic acids during adaptation to 1 mM L-alanine.

Abbreviations : FA, formic acid ; AA, acetic acid ; PA, propionic acid ; BA, n-butyric acid ; VA, n-valeric acid ; CA, caproic acid ; GA, glycolic acid ; MA, malonic acid ; SA, succinic acid.

3. アミノ酸との交差順応実験

アミノ酸はカルボキシル基をもち、カルボン酸の1種と考えることができるが、これら2種の有機化合物に対する味覚受容機構について実験的に検討して受容メカニズムを明らかにすることは興味深い。すなわちアミノ酸とカルボン酸は、化学構造がよく似ているけれども果たして両者の受容形態が同じであるか、1部共有したものであるのか、または全く異なるのかを調べるために、両者の間で交差順応実験を行った。Figure 5に1 mMのL-アラニンに味受容野をあらかじめ順応させておいた時に種々のカルボン酸溶液を与えた場合の結果の1例が示してある。FigureにあるようにL-アラニンに順応させてあるので、順応前(A)と順応後(B)を比べると、順応後ではL-アラニンに対して応答は全くしていない。しかしカルボン酸のすべてについて、コントロール(順応前の通常の応答、A)と比べて順応後(B)では応答値に差が見られないか、あるいは大きくなっている。この事実から明らかなのは、少なくともL-アラニンの受容メカニズムはカルボン酸のそれとは異なっていることを意味している。順応中にカルボン酸の応答が大きくなっているのは、2つの化合物が同時に味受容膜上に存在すると相加あるいは相乗効果が起きている可能性を示唆している。こうした実験を幾つか行った結果を、順応前(コントロール)

Table 3 Cross-adapting rates for several carboxylic acids with 1 mM L-alanine.

Test chemicals	Adapting rates (%) (mean $\pm$ SD)	Numbers of sample
[Monocarboxylic acid]		
formic acid	119.3 $\pm$ 14.3	3
acetic acid	129.4 $\pm$ 33.6	6
propionic acid	131.6 $\pm$ 42.6	6
n-butyric acid	150.7 $\pm$ 35.6	5
n-valeric acid	139.0 $\pm$ 32.6	6
caproic acid	155.7 $\pm$ 47.0	4
glycolic acid	162.1 $\pm$ 19.2	5
[dicarboxylic acid]		
malonic acid	155.3 $\pm$ 49.8	4
succinic acid	163.5 $\pm$ 50.2	7

Abbreviation : SD, standard deviation.

のそれぞれのカルボン酸に対する応答値を100として、順応後の応答の大きさを相対的な値として%で表したものがTable 3に示してある。Tableから判ることはL-アラニンと交差順応試験をしたカルボン酸とでは味覚受容の機構が独立、つまり全く異なったことを示していることである。

考 察

カルボン酸は動物にとって、広く忌避あるいは誘引物質として位置付けられている。例えば、酢酸はゾウリムシでは化学受容膜の脱分極を起こす誘引物質として知られている⁸⁾、軟体動物ではプロピオン酸や酪酸は強い誘引性を持つという^{9,10)}。カルボン酸は植物性プランクトン^{11~14)}などに多く含まれ、かつ細胞外に遊離されていて、それらを餌とする動物にとって索餌行動上重要なシグナルとして働いているものと考えられている。また魚類でも多くの種で脂肪酸が摂餌誘引物質として働いていることが行動実験で示されてきている^{15~18)}、電気生理学的実験によってもこれら有機酸に応答し味刺激性をもつという報告もなされてきている^{16,19,20)}。

有機酸の味覚においては、酸味は水素イオン（実際には H_3O^+ イオン²¹⁾）のみならず未解離の分子によっても生じているとされている^{20,22,23)}。すなわち等モルの塩酸とカルボン酸の応答値を比べると後者の応答がはるかに大きいと報告されている²²⁾。またヒトの官能テストでは両者の味は、酸っぱさは等モルでも pH を合せた時に一致するが、感じる味は異なるという^{21,23)}。また単一神経から記録した味応答実験では、ヒドロニウムイオンに応答する神経線維と、有機酸に応答する神経線維は明らかに異なっている^{19,20)}。さらにカルボン酸の pH を変えて pH の味応答に及ぼす影響を調べた電気生理学的実験によると²⁰⁾、pH6.0~9.0 の範囲では刺激性に変化はなかったと報告されている。つまり未解離の分子自体が味を引き起こしており、有機酸受容器が存在していることを意味している。本実験でも用いた化合物は全て中性領域に調製しており、ヒドロニウムイオンによる影響は無いと考えたと未解離の分子が刺激性を、すなわち味受容膜と何等かの相互作用をもって、有機酸受容器が存在していることを示唆している。

本実験によりカルボン酸はアミノ酸と同様にコイの味覚受容器に高い親和性を示すことが明らか (Fig. 1, 2 および 3) である。ブリ (*Seriola quinqueradiata*) の味覚器においても、乳酸、プロピオン酸、グリセリン酸などに対して高い感受性をもっていると報告されているし、10 mM における相対的な味覚応答値の大きさの順序も本実験で得られた順序と類似しており、種々のカルボン酸に対する閾値や感受性などの点で同じような結果が得られている²⁰⁾。化学構造と味応答の相関という観点からカルボン酸の分子鎖の長さに着目してみると、本実験で見られたのは 1 価および 2 価の化合物ともに分子中の炭

素数が 4~6 個のものがかなり刺激効果が高く (Fig. 4)、その範囲の大きさを持つ分子が味覚受容サイトに適合しているものと結論される。この関係はブリでは特異性が異なっていて比較できないが、ナマズ (*Parasilurus asotus*)¹⁹⁾ やサケ (*Salmo salar*)¹⁶⁾ で得られている電気生理学的な結果とほぼ一致している。またカエル (*Rana nigromaculata*)¹⁹⁾ ではカルボン酸の炭素数の増加により相対的応答値は減少している。これらの結果は、アミノ酸や核酸関連物質の味応答性が種々の点で種間差があるように²⁴⁾、カルボン酸に対する味覚応答スペクトラムや応答特異性に種間差があるものと推測される。

カルボン酸の類似物や誘導体を用いて化学構造の変化による味応答の変化の比較をしてみると (Table 3) 次のような結果にまとめられる。1) ヒドロキシル化およびケト化は味応答値にほとんど影響しない。2) アミノ基を持たせると応答を減弱させる。3) カルボキシル基の他の官能基による置換はエステル化を除いて応答性を無くする。またカルボン酸のナトリウム塩を使用するとき応答性に変化のなかったことから、カルボキシル基の電荷は必ずしも必要ではないものと推測された。これらの結果は、味刺激としての化学物質の構造と味受容膜の間に鍵と鍵穴のような厳密な立体特異性があることを強く示唆している。アミノ酸の化学構造と味応答の間にも同様な立体特異性が丸井ら⁵⁾と藤井ら²⁵⁾により報告されていて、L 型のアミノ酸にしか応答せず、 α -位のアミノ基は味覚発現に不可欠であり、カルボキシル基のエステル化は有意に影響を及ぼさず、 α -位の水素は不可欠であって、かつ側鎖の大きさやその形状に依存していると結論されている。これらの結果は化合物の置換法による影響が 2 種類の化合物において似た傾向にあることを示している。それゆえ、もしかしたらこれら 2 種類の有機化合物の味細胞膜上での受容には、共通した事象があるのかもしれないがいまだ確かなことは不明である。

吉井ら³⁾はウナギ (*Anguilla japonica*) の口蓋神経における味覚実験で、カルボン酸とアミノ酸の交差順応実験とプロテアーゼ処理による実験の結果からこれら 2 種類の化学物質に対する受容器がそれぞれ独自に存在していることを示唆した。本実験における交差順応実験によって (Figure 5 および Table 3) も、カルボン酸とアミノ酸の受容器が異なっているものと考えられた。交差順応中に見られた味応答の増強効果は、両化合物が同時に存在すると相乗効果を誘起する可能性を呈示している。けれどもその点については別の実験計画によって検討しなければ確かなことは現状では不明である。

ヒトにおいても官能テストにより有機酸の味につい

て、塩酸と弱酸であるカルボン酸とでは味が異なるという報告など多くの研究がある^{21-23,26,27)}。

このようにカルボン酸の味覚刺激としての重要性は指摘されてきてはいるが、従来報告されてきているのは現象の記載がほとんどであり、いまだその受容機構について詳細な研究はなされているわけではない。本研究において明らかとなった事柄は、カルボン酸に対する味覚の感受性は鋭敏であり、少なくとも味覚受容のメカニズムはアミノ酸のそれとは異なっていることである。有機化合物に対する味覚受容機構については、今後は神経応答実験ではなく、細胞レベルあるいは分子レベルの実験計画をたてて実施しない限り詳細は明らかとはならないものと考えられる。

結 論

コイの味覚器におけるカルボン酸に対する味応答を、口唇やヒゲを支配する顔面神経から電気生理学的に記録しその応答特異性を検討して次のような結論を得た。

1. 水溶性の1価、2価のカルボン酸に対してよく応答し、その味応答閾値は 10^{-6} ~ 10^{-9} Mの間にあり高い感受性を呈した。

2. 1価のカルボン酸では分子中の炭素数が3~5個であるものに最もよく応答し、2価では炭素数が4~6個の化合物に極めて大きな応答性を示した。

3. カルボン酸の味刺激効果が分子中のどの構造によるものであるかを類似物や誘導体を用いて検討したところ、アミノ化は刺激効果を減弱させ、ケト化やヒドロキシル化はほとんど影響を及ぼさず、カルボキシル基はそのエステル化の場合を除いて不可欠である。しかしながらその電荷は必ずしも必要でないものと考察された。

4. アミノ酸とカルボン酸間の交差順応実験から、これら2種類の化合物の受容機構はそれぞれ異なったものであると考えられた。

5. さらに味受容機構を明らかにするためには、細胞あるいは分子レベルの実験計画を立てて研究してゆく必要がある。

文 献

- 1) 住木諭介：科学の泉(20)：味の化学。創元社、東京、1948.
- 2) Caprio, J.: Olfaction and taste in the channel catfish: An electrophysiological study of the responses to amino acids and derivatives. J. Comp. Physiol. **123**: 357~371, 1978.
- 3) Yoshii, K., Kamo, N., Kurihara, K. and Kobatake, Y.: Gustatory responses of eel palatine receptors to amino acids and carboxylic acids. J. Gen. Physiol. **74**: 301~317, 1979.
- 4) Kiyohara, S., Yamashita, S., Harada, S.: High sensitivity of minnow gustatory receptors to amino acids. Physiol. Behav. **26**: 1103~1108, 1981.
- 5) Marui, T., Harada, S. and Kasahara, Y.: Gustatory specificity for amino acids in the facial taste system of the carp, *Cyprinus carpio* L. J. Comp. Physiol. **153**: 299~308, 1983.
- 6) Marui, T., Evans, R. E., Zielinski, B. and Hara, T. J.: Gustatory responses of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) palate to amino acids and derivatives. J. Comp. Physiol. **153**: 423~433, 1983.
- 7) 隈元伸一：グルタミン酸ナトリウムの味覚応答活性と化学構造の関係。歯基礎誌 **30**: 652~663, 1988.
- 8) Preston, R. R. and Van Houten, J. L.: Chemoreception in *Paramecium tetraurelia*: acetate and folate induced membrane hyperpolarization. J. Comp. Physiol. **160**: 525~535, 1987.
- 9) Thomas, J. D., Assefa, B., Clowley, C. and Ofosu-Barko, J.: Behavioral responses to amino acids and related compounds, including propionic acid, by adult *Bimphalaria glabrata* (Say), a snail host of *Schistosoma mansoni*. Comp. Biochem. Physiol. **66C**: 17~27, 1980.
- 10) Thomas, J. D., Ofosu-Barko, J. and Patience, R. L.: Behavioral responses to carboxylic and amino acids by *Bimphalaria glabrata* (Say), a snail host of *Schistosoma mansoni* (Sambon), and other freshwater molluscs. Comp. Biochem. Physiol. **75C**: 57~76, 1983.
- 11) Patience, R. L., Sterry, P. R. and Thomas, J. D.: Changes in chemical composition of a decomposing aquatic macrophyte, *Lemna paucicostata*. J. Chem. Ecol. **9**: 889~911, 1983.
- 12) Sterry, P. R., Thomas, J. D. and Patience, R. L.: Changes in the concentrations of a short-chain carboxylic acids and gases during decomposition of the aquatic macrophytes, *Lemna paucicostata* and *Ceratophyllum demersum*. Freshwater Biol. **15**: 139~153, 1985.
- 13) Juttner, F. and Matuschek, T.: The release of low molecular weight compounds by the phytoplankton in an Eutrophic lake. Water Res. **12**: 251~255, 1978.

- 14) Fogg, G. E. and Nalewajko, C. : Glycolic acid as an extracellular products of phyto-plankton. *Vehr Internat. Verein. Limnol.* **15** : 806~810, 1964.
- 15) Allison, J. B. and Cole, W. H. : Stimulation of fundulus by hydrocholic and fatty acids in fresh-water, and by fatty acids and the sodium salts of mineral acids in sea water. *J. Gen. Physiol.* **17** : 803~816, 1934.
- 16) Sutterlin, A. M. and Sutterlin, N. : Taste responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *J. Fish. Res. Bd. Canada.* **27** : 1927~1942, 1970.
- 17) Harada, K. : Feeding attraction activities of amino acids and lipids for juvenile yellowtail. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **51** : 453~459, 1985.
- 18) Harada, K. and Akishima, Y. : Feeding attraction activities of proteins, amino acids, lipids and nitrogenous bases for abalone. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **51** : 2051~2058, 1985.
- 19) Tateda, H. : Taste receptors of organic acid and hydrogen ion in catfish and frog. *Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ. Ser. E [Biol.]* **4** : 95~105, 1966.
- 20) Zeng, C. and Hidaka, I. : Gustatory responses to organic acids in the yellowtail. *Proc. 23rd Symp. Taste and Smell.* **23** : 221~224, 1989.
- 21) Ganzevles, P. G. J. and Kroeze, J. H. A. : The sour taste of acids. The hydrogen ion and the undissociated acid as sour agents. *Chem. Senses* **12** : 563~576, 1987.
- 22) Beidler, L. M. : Anion influences on taste receptor response. In : *Olfaction and Taste II.* (Ed. Hayaishi, T.), pp. 509~535, Pergamon Press (Oxford), 1967.
- 23) Ganzevles, P. G. J. and Kroeze, J. H. A. : Acid sourness, the effect on taste intensity of adaptation and cross-adaptation to common ions. *Physiol. Behav.* **40** : 641~646, 1987.
- 24) Marui, T. and Caprio, J. : Teleost gustation. In : *Fish Chemoreception.* (Ed. Hara, T. J.), pp. 171~198, Chapman and Hall Ltd., 1992.
- 25) 藤井修三, 杉木正史, 猪去富次郎, 八木裕幸, 辻満, 秋元久仁章, 天貝裕地, 丸井隆之 : アミノ酸味覚受容における構造—活性相関. *奥羽大歯学誌* **21** : 232~238, 1994.
- 25) Norris, N. B. and Noble, A. C. : Human saliva and taste responses to acids varying in anions titrable acidity and pH. *Physiol. Behav.* **32** : 237~244, 1984.
- 26) Makhloaf, G. M. and Blum, A. L. : Kinetics of the taste response to chemical stimulation. A theory of acid taste in man. *Gastroenterology* **63** : 67~75, 1972.