味覚および嗅覚受容膜

栗原 堅三

北海道大学薬学部 ☎ 060 札幌市北区北 12 条西 6 丁目

RECEPTOR MECHANISM OF OLFACTION AND TASTE

Kenzo Kurihara

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan 〒 060

The present article deals with the current understandings of the characteristics of receptor sites for odorants and taste stimulants, mechanisms of discrimination of odor and taste, synergism, and the transduction of chemical information into electric signals.

1. Responses to odorants are seen not only in the olfactory system, but also in such non-olfactory systems as neuroblastoma cell and liposomes. The latter systems have no specific receptor proteins for odorants. Changes in lipid composition of liposomes lead to changes in specificity of the liposomes to odorants.

The membrane composition of each olfactory cell is postulated to be different. Different odorants will produce different response profiles in each olfactory cell, with odor quality encoded in this response profile.

2. The fact that turtle olfactory responses are independent of ion concentrations on the olfactory epithelium and the fact a large olfactory response appeared after complete elimination of carp olfactory cilia suggest that ionic permeability changes at the apical membrane of olfactory cells, including ciliary membranes, do not contribute to the olfactory receptor potentials.

3. Sweet substances and amino acids are recognized by specific receptor proteins on taste receptor membranes, while the basic lipid-protein structure of membrane is involved with reception of salts, acids, and bitter substances.

4. Permeability of the taste receptor membrane to ions does not contribute to the taste receptor potential elicited by most stimuli. Stimulus-induced changes in phase-boundary potential leads to depolarization of the apical membrane of taste cells. Depolarization of the apical membranes activates voltage-dependent Ca channels at the synaptic area, entry of Ca ion, and release of neurotransmitter (norepinephrine).

ご紹介いただきました北大の栗原でございます。野沢先生から大変過分にご紹介いただきまして、恐縮しております。ご紹介いただきましたように、私は昭和 47 年から約 6 年間、小島先生のところで助教授をしておりまし

て、その関係で今日はお呼びいただいたと思います。今日は最近のデータをお話したいと思いますけれども、その基本的な考え方は小島先生と当時一緒にやらせていただいたところに根を置いています。

ご承知のように、生体膜の分野では、最近ではいろいろな刺激がくると、膜の中で、たとえばリピッドの代謝が起こるといったような生化学的な研究が非常に進んでおります。野沢先生はこの方面の大家でいらっしゃいます。ですから人工膜をやっておられる方にとっては、むしろ生体膜が遠くなってしまったのではないかという気がいたします。今日は最近の生体膜の研究方向とは違った、むしろもう少し物理的なメカニズムで化学物質の認識が行なわれているのではないかというような話をさせていただきます。

最初にニオイの話をさせていただきまして、その次に味のはなしをさせていただき、最後に電位がどういふふうにして発生するかという話をいたします。いずれも私どもの独断と偏見に満ちた結果をお話するわけでありませう。私どもと反対の意見の研究者もたくさんいますので、その分を割引いて聞いていただきたいと思います。

最初にニオイの話をいたします。

これは鼻の模式図ですけれど、鼻の奥のところにニオイを感じる嗅細胞があります(スライド1)。

この部分をセクションで切ってみます。黄色に染まっているのが嗅細胞でありまして、上の方からニオイがきて、ここでニオイを感知します。この細胞は神経細胞の末端に相当してしまっていて、シナプスを作らずに嗅球まで伸びています(スライド2)。

さて、嗅覚の分野においては、最近 cAMP がセカン

スライド 1.

ドメッセンジャーとして働いているかもしれないということが話題になっています。歴史的には、私自身が随分以前に、嗅上皮のホモジェネートは非常に強いアデニレートサイクเลส活性があるということを B. B. R. C に発表したのが最初です。そのときは、ニオイ物質をホモジェネートに添加しても、とくにアデニレートサイクเลสは活性化しませんで、そのままになっていました。数年前に、イスラエルのランセットのグループが、次のような実験をしました。彼等がカエルの嗅上皮から線毛を取り出しましたところ、実はアデニレートシクラーゼは線毛に局在しており、非常に強いアデニレートシクラーゼ活性が線毛にあることを発表しました。さらに GTP 存在下でニオイ物質を与えますと、アデニレートシクラーゼが活性化されるということを報告しました。続いて中村とゴールドは(中村さんは最近電通大に移られました)、嗅線毛膜にパッチクランプ法を適用しまして、cAMP が直接線毛膜のカチオンチャンネルを活性化すると発表しました。ですから、嗅線毛膜に cAMP で開くカチオンイオンチャンネルがあるということは、間違いない事実であります。ただはたしてこのチャンネルが生理的な条件下でニオイの受容に関係があるかどうかに関してはいくつかの意見があります。

これはディオーネという人の総説からとった図です

スライド 2.

スライド 3.

(スライド3). 横軸はニオイ物質濃度、縦軸はアデニレートシクラーゼの活性を示しています。確かに嗅物質の濃度を上げますと、アデニレートシクラーゼが活性化されるニオイ物質はたくさんありますが、濃度を上げて活性化するニオイ物質もたくさんあります。また最初ランセットらはニオイ物質でアデニレートシクラーゼが活性化されるのは、嗅細胞だけで起こるということを発表しましたが、最近では、たとえば嗅細胞とは全然関係のないカエルの皮膚にある色素胞細胞にニオイを与えると、アデニレートシクラーゼが活性化されることが報告されました。この場合、ニオイ物質濃度、酵素の活性化の程度などほとんど嗅細胞と同じことが起こっています。このことは、ニオイのような脂溶性物質がくるとアデニレートシクラーゼが活性化することを示唆しているわけです。色素胞細胞にはニオイのレセプターがあるわけではないのですから、レセプター蛋白質を介して、アデニレートシクラーゼの活性が起こっているのではありません。つまりニオイによりアデニレートシクラーゼが活性化されるのは、嗅細胞に特有な現象ではなかったわけです。それでも嗅細胞では、cAMP がセカンドメッセンジャーであるという可能性は依然としてあります。

そこで、私どもは、アデニレートシクラーゼが局在している嗅線毛を除去してみました。線毛を除去する方法は、ゾウリムシやテトラヒメナの線毛を取るのと同じような方法、つまり比較的濃いエタノールを流したあと、高濃度の塩化カルシウム液を流しますと、この線毛の部分だけきれいに取れます。この状態でニオイを与えたら嗅覚応答がどう影響されるかを調べました。

実験ではコイを使いましたが、このように嗅上皮表面には一面に線毛が生えています。除線毛処理をいたしますと、このように線毛は根元のところから完全にとれて、

コイ嗅覚応答に対する除線毛処理の効果

除線毛前のコイ嗅覚応答

除線毛後のコイ嗅覚応答

Kashiwayanagi et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 437, 154, 1988

スライド 4.

線毛が全然ないのがわかります。線毛が完全にないことを確かめて、魚にとってはニオイ物質であるアミノ酸を嗅上皮に与えました。線毛を取る前のアラニンの応答はこの大きさですが、線毛を取ったあとでもほとんど同じ大きさの応答が現れます。濃いエタノールや高濃度の塩化カルシウムを使うという非常にドラスティックな処理をしているわりには、応答は少し減少する程度であり変化しないのはむしろ意外でした。どうも線毛は、ニオイの受容には関係がないのではないかと考えました (スライド4)。

それでも線毛が完全にとれてなかったんではないかとかいう人もいまして、このことだけで線毛のアデニレートシクラーゼの役割を否定するのは問題があります。そこで今度は次のような実験をしました。通常嗅細胞表面は粘膜で覆われていますが、この粘液中には当然ナトリウムイオンやカリウムイオンのようないろいろなイオンが含まれています。ですから、この線毛膜のチャネルが開くと、たとえばナトリウムイオンがチャネルを通してこの線毛内に入ってくると考えられます。そこで、

スライド 5.

嗅上皮表面からイオンを完全にとってしまったら、つまり嗅細胞表面を脱イオン水で環流してソルトフリーの状態にしてみたら、外側から線毛内へ入るべき陽イオンがない状態ですから、当然ニオイに対する応答がなくなることが期待されます。すなわち、このような条件下では、たとえば、カリウムイオンが線毛膜のカチオンチャネルから外に出ることになるので、ニオイによりいわゆる脱分極方向の電位変化は起こらないはずで、この実験は、アミノ酸ではなく通常のニオイ物質でやりたいので、カメを使って実験をやりました（スライド5）。

カメは非常にニオイに対して敏感な動物で、実験がやりやすい動物です。この図は100 mMのNaCl溶液で環流したときのニオイ応答とソルトフリーにしたときのニオイ応答の比を表しています。たとえば、これはβ-イオンというニオイ物質の場合ですが、ソルトフリーにしても100 mM NaCl中の応答の70%位の応答が残っているということです。

このように、ニオイによっては、むしろソルトフリーのときの方が大きくなるものもあります。結論としては、ソルトフリーにしてもニオイの応答は基本的には変わらないということです（スライド6）。

それでもまだ、われわれは嗅上皮から粘液を完全に除いたつもりでも、まだ粘液が残っていてイオンが十分取

スライド 6.

り除かれていないのではないかという批判があると思います。そこで、今度はソルトフリーにして、嗅上皮に塩自身をかけてみました。われわれは舌で塩を塩辛いと感じますけれども、実は味覚と嗅覚というのは非常に似ておりまして、嗅上皮に塩を与えるとちゃんと塩応答がでます。ただ、嗅上皮に塩を与えるのですから、動物は塩辛いと感じているわけではありません。塩の応答を調べてみますと、たとえばNaClですと、非常に低濃度つまり10⁻⁶M付近から応答が出ます。KClでも、10⁻⁵M付近から応答がでます。このような濃度から塩応答が現れるということは嗅上皮を、環流して塩をとり除くと、塩濃度はこれ以下の濃度に下がることを意味しています。もしこれ以上の、たとえば1mMの塩が残っていたとしますと、塩が10⁻⁶~10⁻⁵M程度増えても1mMに対してはネグlijブルですから、応答はでないはずで、また、CaCl₂はさらに濃度が低いところから応答がでます。ですから、塩はこの塩応答が現れる濃度以下には、完全に除かれていたわけです（スライド7）。

このような塩濃度では、電気化学ポテンシャルを考慮しても、陽イオンが線毛膜のチャネルを介して線毛中へ透過することはあり得ません。嗅線毛に陽イオンチャネルがあることは確かだけれども、生理的にはむしろ別のメカニズムでニオイの受容が行われているのではないかと私達は考えています。電位がどうして発生するかということは、最後にお話いたします。

スライド 7.

Specific receptor theory
Pheromones
Amino acids
General odorants ?

Protein Phospholipid

1. Isolation of specific binding proteins
Protein for anisol (Price, 1981)
camphor (Fesenko et al., 1985)
IBMP (Pevsner et al., 1985)
2. Activation of adenylate cyclase by odorants

Non-specific receptor theory
General odorants

Protein Phospholipid

Odorant

1. Question: Do olfactory cells provide receptor proteins for multifarious odorants ?
2. Cells other than olfactory cells respond to odorants
Tetrahymena
Turtle trigeminal nerve
Frog taste cell
mouse neuroblastoma
3. Activation of adenylate cyclase by odorants is not unique phenomenon to olfactory cells.
Various odorants Melanophores (Lerner et al., 1988)
Lipophilic substances Striatal membrane (Luthin et al., 1987)

スライド 8.

それでは、次は何がレセプターかという問題です。今、生化学の分野では、いろいろな種類の受容蛋白質が単離されています。嗅細胞でも、たとえばヒマンのニオイ、これは非常に低濃度でニオイがするので使いますが、このニオイに対する結合蛋白質を単離したということが話題になっています。この仕事は、中枢における受容体の研究で有名なソロモンシュナイダーのグループの仕事で、最近はいくさんのペーパーを発表しています。発表当初は、これは本物の受容蛋白質だろうと思った人が多かったようです。しかしその後実はこの蛋白質は水溶性

の蛋白でしかも嗅細胞を覆っている粘液の中に存在する蛋白質であること、さらには、涙の中にも存在するというような蛋白質であることがわかりました。こういう水溶性の蛋白質が、受容蛋白質であるということは一般的には考えられません。シュナイダー自身も、最近ではこの蛋白質はニオイの受容蛋白質ではなくて、ニオイを粘液から嗅上皮に運ぶ蛋白質であるといういい方をしています。こうした類の実験は割合たくさん報告されていますけれども、今のところはニオイの受容蛋白質と認知されているものではありません。私どもは、こういう特別な

スライド 9.

スライド 10.

蛋白質はニオイの受容には必要ではなく、しかもそれでもニオイの識別ができると考えています。それでは、どうしてこういうことを考えたかを説明したいと思います。

とにかくニオイには、目茶苦茶多い種類があります。適当な蒸気圧があれば、ほとんどの物質はニオイがしま

スライド 11.

す。人工的にわれわれが何かを合成しても、気体状になるものなら、ニオイがします。こういういろいろなニオイに対して、生体はいちいち特異的な受容蛋白をはたして用意しているのだろうか。こういう素朴な疑問をもっ

ています (スライド 8)。

それから、もう一つはあとからお話しますが、ニオイに対する応答は、嗅細胞でみられるだけではありません。たとえば味覚の細胞に水に溶かしたニオイ物質を与えると、嗅覚細胞と同じようにちゃんと神経にインパルスが現われます。また、三叉神経、これも全く嗅細胞に関係ない神経ですが、この三叉神経にニオイを与えると、非常に敏感に応答します。この応答の感度は、嗅神経とほとんど同じだといわれております。さらに、神経芽細胞腫、これはあとでもう一度述べますが、この細胞もニオイに応答することを私どもが見つけました。こうした嗅細胞とは無関係の細胞には、ニオイに対するレセプター蛋白があるとは考えられません。私どもはどういうことを考えているかといいますと、ニオイのような疎水的な物質は生体膜の中のいろいろな疎水性ポケットに吸着して、膜に一種のパターベーションを与える。これがニオイ刺激になる。しかもこういうメカニズムでもいろんなニオイの識別が可能であることを提案しています (スライド 11)。

スライド 12.

スライド 13.

スライド 14.

こうした考えの背景になった実験の結果を、これからおはなしします。さきほど述べました神経芽細胞腫は、神経細胞がガン化した細胞で比較的大きな細胞ですから微小電極を挿入して膜電位を容易に測定できます。あるいは、この細胞のサスペンションに膜電位感受性の蛍光色素を入れて蛍光強度変化を測ると、膜電位を簡単に測定できます(スライド9)。

この細胞にニオイを与えますと、スライド10に示しますが、これは微小電極で測ったデータですけれど、ニオイによりいわゆる脱分極が可逆的に起こります。この場合はローダミン6Gという蛍光色素を用いた結果です。このようにいろいろなニオイ物質に対して濃度依存的に脱分極が起こります(スライド11)。

さきほどいいましたように、もともとニオイ物質は非常に疎水性のものですから、もっと簡単な系つまりリポソームだけで膜電位変化が起こるのではないかと考えて実験してみました。実はこういう実験は以前やっていたことがありますが、そのときは脂質の組成が適当ではな

かったので、全然応答しませんでした(スライド12)。

今回の実験では、何のことはなくてアゾレクチンという脂質、これは人工膜をやっている人はよくご存知ですが、大豆の総脂質ですけれども、これで作ったリポソームにニオイを与えるといろいろなニオイ物質応答することがわかりました。この図では、最低どの濃度から応答するかという、いわゆる閾値濃度を横軸に、縦軸にカエルの嗅覚応答の閾値をとっています。そうしますと、このような良い相関があります。つまりカエルに低濃度で応答を起こすニオイは、アゾレクチンリポソームにも低濃度で脱分極を引き起こします。

ただしこの横軸を見ていただくとわかりますが、アゾレクチンリポソームの方が、だいたい2桁位感度が悪いわけです。ですから、カエルの方がまだ感度的には優れているわけです(スライド13)。

感度が高いのは生体中では何か増幅機構が働いているためとも思いましたが、実は脂質組成を適当に変えると、むしろ動物の嗅覚よりも感度がよくなることを見つけました。たとえばホスファチジルコリン(PC)だけで作ったリポソームのアミルアセテートに対する応答をここに示しますが、PC単独のリポソームではアミルアセテートの濃度を非常に高くしないと応答しませんし、応答の大きさも非常に小さなものです。ホスファチジルセリン(PS)を5%、10%、20%と増やしますと、応答の閾値は、非常に低くなりまして、たとえばPSが20%位入ったリポソームでは、 10^{-9} M位の低濃度から応答しはじめます。ちなみにカエルのアミルアセテートの応答閾値は 2×10^{-5} M、カメは非常に嗅覚の敏感な動物ですがアミルアセテートの閾値は 10^{-8} Mです。ですから、PCにPSを混ぜて作ったリポソームのニオイに対する感度は、動物の嗅覚器よりむしろいいということになります。実はあまり感度がいいので半信半疑だったのですが、大ざっぱな計算をしてみますと、リポソーム1個におそらく1分子とか数分子位のアミルアセテートが吸着しただけで、小さな脱分極応答が現れることになります。この点は、もう少し確かめてみたいと思っています。

これは膜の流動性を蛍光色素で測ったデータです。PCにPSを20%入れた場合、膜電位が変化しはじめる 10^{-9} Mからアミルアセテートにより膜流動性が変化しはじめます。PCだけの場合は、膜電位の場合と同じく、アミルアセテートが高濃度にならないと変化しません。つまり、流動性の変化でみても、PCにPSを含むリポソームは非常に低濃度でアミルアセテート応答して

スライド 15.

カエル味覚器のニオイ物質に対する応答 の交差順応

スライド 16.

いるのがわかりました (スライド14).

今述べました閾値濃度を縦軸にとって、PC に対する

PS の割合を横軸にとってみますと、たとえばアミルアセテートの場合には、このように PS の割合が増えると閾値が大きく下がります。PS の割合をこれ以上増やしても、感度はここで頭打ちか、むしろ悪くなります。他のニオイ物質、たとえば β -ヨノンの場合には、PS が多過ぎると逆に感度が悪くなる傾向にあります (スライド 15)。

つぎに、ニオイの識別はどのように行われているかというはなしをさせていただきます (スライド 16, 17)。

まず動物を使ってニオイの識別をどのように評価するかを述べます。一般的にはニオイの識別を定量的に評価するいい方法がないんですけれども、私どもは感覚の慣れという現象を利用して、動物がどれ位、どういうニオイを区別するかを定量的に評価する方法を考えました。これはカメを使った実験ですが、最初にたとえば *L*-シトロネラル (柑橘類のニオイ) を与えます。すると、嗅覚が慣れてしまって、ニオイを与え続けていても応答は出ません。この現象は、生理学や薬理学で脱感作と呼ばれる現象と同じです。 *L*-シトロネラルのあとにこれと似た構造をもつ *d*-シトロネラルを与えても、小さな応答しか現れません。これは両者が非常に似たレセプターサイトを使っているということです。味の場合には、たとえば *D*-アミノ酸と *L*-アミノ酸というのは非常に味が違うわけですが、シトロネラルのようなニオイの場合には光学異性体間ではニオイの差がありません。 *L*-シトロネラルも *d*-シトロネラルもどちらも

スライド 17.

スライド 18.

柑橘類のニオイがしますし、このように動物を使ってもほとんど区別しません (スライド16)。

つぎにL-シトロネラールを与えた後に、これとは全くニオイが違うアミルアセテートを与えてみても、この

場合は、アミルアセテートの大きな応答が現れます。つまりこの場合は、レセプターサイトが全く異なっていることを示しています。いろいろなニオイ物質を組み合わせ、このような実験をやれば、どのニオイとどのニオイ

スライド 19.

は同じサイトを刺激し、どのニオイとどのニオイは違うサイトを刺激するかを定量的に評価できます。

こういう方法を使って、いろいろなニオイ物質について定量的な実験を行っています。どういう方法で調べているかといいますと、たとえば最初に与えるシクロヘキサノンの濃度を変化させます。そうすると、同じようなレセプターサイトに吸着するものは、シクロヘキサノンの濃度が高くなるとこういうふうに応答がでなくなります。たとえばメントンとメントール、シクロヘキサノンとメントールはいずれもハッカのニオイのする物質ですが、全く独立のサイトに吸着します。こういう差を測定することによって、ニオイの質の区別を定量的に評価をしていきたいと思っています。

こういう実験を行った結果では、嗅細胞はとにかくやたらといろいろなニオイを区別します。われわれは化学構造が違えばニオイで区別できるものが多いわけですが、動物の嗅細胞でもいろいろなニオイを区別しています。

これほどいろいろなものを区別するとなると、やはりレセプター蛋白質を考えたくになります。実はカエルの味覚器（これがニオイに応答するとさきほどいいましたけれども）でも、いろいろなニオイ物質を区別いたします。エタノールを与えたあとにメタノールを与えても応答が出ませんので、エタノールとメタノールはかなり似た物

質として感知しています。ところがエタノールのあとにブタノールを与えますと、炭素が2つ違うだけで完全に独立の応答がでます。その他にも、このスライドに示すように、実にいろいろなニオイ物質を区別します。ですから、カエルの味細胞のように、嗅細胞と無関係なすなわち特別な嗅覚レセプターがないと思われる細胞でも、いろいろなニオイ物質をきちっと区別しています（スライド17）。

それではさきほどのリポソームの系では、どういうニオイの識別が行われているかをお話します。たとえばPCにホスファチジルエタノールアミン（PE）をいろいろな割合で加えたりリポソームを作ってみました。PEを含まないときは、6種類のニオイ物質のうち5種類に、上向きすなわち生体膜という脱分極の方向の電位変化を示します。ところが、PEの割合を増やしていきますと、たとえば半分位にしますと、2種類のニオイには脱分極するけれども、他のニオイには脱分極応答を示さない。

このように脂質組成を変えると、ニオイに対する選択性が現れます。いろいろな脂質がありますから、組み合わせはほとんど無数にできるわけです。この場合はコレステロールの量を増やした例ですが、最初は4種類のニオイに全部応答しますが、コレステロールが1割位入ると1種類のニオイにしか応答しなくなります。このように脂質組成を変えると、ニオイに対する選択性が非常に変わってまいります（スライド18）。私どもは、さきほど述べましたように、ニオイ分子は生体膜の疎水性部位に吸着すると考えていますので、脂質の種類が違えば当然疎水性ポケットの構造が変わってきて、ニオイに対する応答が変わると思っています。実際の嗅細胞にこの考えを当てはめてみます（スライド18および19）。

まず、個々の嗅細胞の細胞膜の脂質組成は、少しずつ違うと仮定します。1個の嗅細胞の脂質組成を測定できませんので、あくまでも仮定です。そうしますと、ある細胞にXというニオイを与えたときには非常に大きな膜電位変化が起こって、それにつながっている神経にインパルスがたくさんでます。また別の細胞は膜電位変化が小さく、インパルス頻度も小さいといったことが予想されます。この結果、ニオイXに対し固有なインパルスパターンが形成されるはずであります。この神経のインパルスパターンは脳で情報処理され、Xというニオイと認識されます。Yというニオイを与えれば、別のインパルスパターンが形成され、Yというニオイとして脳が認識します。

こういうパターン認識という考えは別に新しい考えで

スライド 20.

はなくて、生理学の分野の人は皆さんこういう考えを持っています。といいますのは、1つの嗅細胞はいろんなニオイに応答しますから、やはりパターン認識以外には、ニオイの識別機構を説明できません。私どもの考えの何が今までの考えと違うかといいますと、私どもは各細胞のニオイ応答選択性は、たとえば脂質組成が違えば変わってくる。もちろん脂質だけでなく蛋白質も非常に重要な役割をはたしているはずでありまして、たとえばリポソームに赤血球の膜蛋白質を入れますと、やはりニオイ選択性がかなり変わってきます。ですから、蛋白質の含量や種類の差もニオイの識別に貢献しているはずです。ただ私どもが主張したいのは、ここでいう蛋白質はアセチルコリンやインシュリンのレセプター蛋白質といったようなある物質に特異的な蛋白質ではなく、普通の膜構成蛋白でいいということです。

人工センサーとして脂質膜を応用するとき、脂質組成の異なる膜をたくさん作っておいて、その系全体からの情報を処理することでニオイの識別ができると考えています(スライド19)。

それでは、リポソームのような簡単な系で、いろんなニオイ物質がリポソームのどこに入り込んで識別されているのでしょうか。このことを調べるために、リポソーム中にいろいろな蛍光色素を埋め込んでおきます。たとえばステアリン酸の2番目、7番目、12番目の炭素にそれぞれ蛍光色素がついたものを膜に埋め込んでおいて、

膜流動性を測定してみます。つまりニオイを与えたときに膜のいろんな深さのどこで流動性変化が起こるかを測ってみます。この軸はオレイン酸蛍光色素で測定した結果を、こちらにいくにしたがって膜中で深くなる方向にとって表しています。

この軸はステアリン酸の軸、2重結合がありますから膜のゾル状の領域の流動性を表す軸です。この軸は、DPHやANSに対する軸です。ニオイを与えると、 β -イオノンの場合には色素の動きが抑えられる方向、つまり膜が固くなる方向に流動性が変化します。こういう変化が、濃度依存的に起こります。いろいろなニオイでは、それぞれ特徴的な変化が起こります(スライド20)。これはたくさん実験をやった結果をまとめたものです。花の香がするもの、ハッカの香のするもの、ジャ香をもっているものなどのニオイ物質のパターンを示しています。おのおのパターンを比較してみると、同じような香のものは似たようなパターン変化を示しています。ただこの図ではわかりにくいので、多次元尺度法という方法で解析をしました。多次元尺度法では、ここに示した距離が互いに近いほど性質が似ていることを意味します。そうすると似たニオイをもつものは、似たような場所に集まる傾向がみられます。似たようなニオイのするものは、リポソーム中の似た部位に吸着することを意味しています。

今示した結果は、アゾレクチンという混合脂質系で得

スライド 21.

スライド 22.

られた結果ですが、PC だけからできている非常に単純なリポソームでは、今述べたような特徴は見えません。全体がバラバラに分布して、特徴的な傾向は見られません。ですから、いろんなニオイを識別しようと思った

ら、いろいろな脂質が混ざっていることが必要です。脂質だけでなく、蛋白質を入れたら、さらにこのようなニオイごとの特徴がはっきりする傾向があります(スライド 21)。

さて次は味の話をしていきます。

これは、味細胞の模式図を示します。味細胞は上皮細胞が分化してできたもので、神経細胞との間にシナプスを作っています。この味細胞の先端にレセプターがあるわけです。味物質が吸着いたしますと、細胞電位が脱分極方向に変化します。味細胞の底部には、電位依存性のカルシウムチャネル(電位が変わると開くカルシウムチャネルという意味ですが)があります。味細胞が脱分極しますと、電位依存性カルシウムチャネルが開きます。この結果、カルシウムは細胞の外から細胞中へ入ります。この結果、味細胞から伝達物質が放出されます。伝達物質は、私どもがカエルで調べた限りでは、ノルエピネフリンと思われます。刺激物質には、甘味物質、苦味物質、塩、酸、うま味物質などいろいろなものがありますが、どの物質で刺激しても、味細胞から放出される伝達物質

スライド 23.

スライド 24.

は、ノルエピネフリン1種類です。それでは、どのようにして味の区別をしているかという、これはニオイの場合と基本的に同じであります。1個の味細胞にいろいろなレセプターがたくさんありますが、細胞には個性があります。ある細胞は甘味のレセプターがたくさんあ

スライド 25.

て、別の細胞はうま味のレセプターがたくさんあるというように、少しずつ性質の違った細胞がたくさんあります。これらの細胞に繋がっている味神経のインパルスパターンが、味質を決定しています (スライド22)。

今日は、伝達物質の放出や神経の応答の話はふいて、受容サイトののなしをいたします。つまり、受容サイトに味物質が吸着すると、どうして膜電位変化が起こるかという話をさせていただきます (スライド25)。

最初にレセプターの性質をお話します。いわゆる基本味としては、酸味、塩辛い味、甘味、苦味、うま味の5種類があります。基本味はいく分人為的なものではありますが、実際には便利なものですから、こういう分類をよく使います。

味細胞の先端には、こうした味物質に対する受容サイトがあります。今までのいろいろな状況証拠から、糖に対しては特別な受容蛋白質があることがわかっています。受容蛋白質は1種類ではなくて、たとえばグルコースに対する蛋白質と、フルクトースに対する蛋白質は違う受容蛋白質であろうことがわかっています。おそらく数種類の甘味受容蛋白質があるだろうと考えられています。この蛋白質を単離しようとする試みはいろいろ試みられてきましたが、現在、依然として成功していません。

また、アミノ酸についても同様に特異的受容蛋白質があります。おそらく10種類近い、別々の違ったアミノ酸を受容する蛋白質があるだろうと私どもは考えています。ただこれらの蛋白質も、依然としてきっちりとは単離・精製されてはいません。これに対して、苦味物質には非

スライド 26.

スライド 27.

常にたくさんの種類がありまして、さきほどのニオイの場合と同じように、受容膜の脂質層に吸着することが苦味刺激を引き起こすのだろうと考えています。すっぱい味はプロトンの味、塩辛い味は塩の味ですが、これはあとでお話します (スライド 23)。

こういう議論をするときは、とにかく味を定量しないといけないので、ラットとかカエルとか、いろいろな動物を使いますが、今日はイヌを使った実験をお話します。

味覚の研究では、最終的には人間の味覚の機能を明ら

スライド 28.

スライド 29.

かにすることが重要ですが、イヌの味覚はどういうわけか人間の味覚に非常によく似ています。たとえば、うま味物質に対しては他の動物ではあまり大きな応答はみられませんが、イヌの場合は非常に人間と似た応答が測定できます (スライド 24)。

最初に糖のはなしをします。これはイヌの味神経の応答ですが、フルクトースや、ショ糖や、マルトースのような糖によく応答します。

イヌはここに示した順序で糖に甘味を感じているわけですが、この順序は人間がどの糖を甘く感じるかという順序とよく一致しています (スライド 25)。

私どもは、日頃「しるこ」の中にちょっと塩を入れると甘くなるとか、「すいか」に塩をかけると甘くなるといようなことを経験します。実はこういうことがイヌの味覚器でも起こっています。ここでは、0.5M のショ糖に食塩を添加しています。食塩濃度が 10 mM 以上になると、糖応答が非常に増大します。あまり塩がすぎると、糖応答が抑制されてしまいます。糖応答がなぜ抑制されるかということはあとでもう 1 度はなしをし

スライド 30.

テストに用いたカニ肉エキスの組成表 (100ml中)

成分	含量 (mg)
グリシン	600
アラニン	200
アルギニン	600
グルタミン酸ソーダ	30
イノシン酸ソーダ	20
食塩	500
リン酸2カリウム	400
pH	6.80

スライド 32.

スライド 31.

す。ここでは、塩による糖応答の増強の話をする(スライド26)。

どうい糖の応答が塩で増強されるかを調べてみました。ここでは60 mMのNaClを使っていますが、ショ糖だけではなく、グルコース、ガラクトース、フルクトース、マルトース等の応答は、いずれも食塩で増強されます(スライド27)。

増強効果は、NaClだけではなく、陰イオンを変えた硫酸ナトリウムや、陽イオンを変えたKClや、コリンのように膜を透過しないような陽イオンの塩を使っても、このように非常に大きな糖応答の増大が起こります。ですからナトリウムイオンがナトリウムチャンネルをと

おって細胞の中へ透過するために糖応答が増大するといような図式では、説明できないわけです(スライド28)。

この図は、フルクトースの濃度を横軸にとったときの糖応答の大きさを示しています。こちらは塩が存在しないとき、こちらは100 mMのNaClが存在するときです。NaClが存在しても、最大応答値は変わりませんが、この曲線のスロープが急になっているのがわかります。ですから、応答が飽和していない領域で、この図のように塩の存在により応答が増大しています(スライド29)。

ヒルプロットしますと、塩がないときのヒル係数はほぼ1です。すなわち、この場合はラングミュアの吸着等温式にしたがうわけです。ところが、塩が共存すると、ヒル係数はほぼ2になります。ですから、塩が共存すると膜の状態が変化して、レセプター間に協同性が増し、この結果、スロープが急になって応答が増大するものと思います(スライド30)。

つぎに、うま味の話をする。うま味物質のうち、グルタミン酸ソーダーは昆布のうま味成分であり、イノシン酸はかつお節の成分で、グアニル酸はしいたけの成分です。この3種類が、よく使われるうま味物質です。うま味で特徴的なことは、グルタミン酸ナトリウムとこれらのヌクレオチドの間に非常に大きな相乗作用があるということです。つまり、単独ではあまり強いうま味がなくても、混ぜると非常に強いうま味が現れます(スライド31)。

話は少し外れますが、これは東大の農学部におられた鴻巣先生の実験です。カニは大変美味しい味がしますが、カニの味が何で決まっているかという研究をされたわけ

スライド 33.

スライド 34.

です。まずボイルしたカニの肉の中に、どういう成分のものが含まれているかを分析し、次にこれらから1つ1つアミノ酸の成分を取り除いていって、カニの味に不可欠なものを決めたわけです。驚いたことに、カニの味はこんな簡単なものだけで決まるということです。つまり、グリシン、アラニン（これは両方とも甘いアミノ酸ですが）、アルギニン、それにグルタミン酸ナトリウムとイノシン酸のうま味物質、塩をこの表のような割合で混ぜると、全くカニらしい味になります。私自身もこの組成の混合液をなめてみたことがあります。本当に美味しいカニにそっくりな味でした。こうしたアミノ酸の種類や混合比を変えると、ウニの味とか、ホタテの味とか、

スライド 35.

いろいろな味を作り出せます。これは人工的にまねするというより、実際にこういう海産物の味がこのようなアミノ酸の味で決まっているということです。

ここで何よりも重要なのはうま味物質でありまして、これがないと全然カニの味らしくなくなります。そういう意味では、うま味はこうした食べ物の味に非常に重要な役割をしているわけです（スライド 32）。

さきほどヌクレオチドとグルタミン酸ナトリウム（MSG）との間に相乗作用があるといいましたが、これをイヌで調べてみました。この図の横軸 MSG の濃度を取り、縦軸に味神経の応答の大きさをとります。GMP（これはシイタケのうま味ですが）がないときは、こういう濃度領域で応答が現れます。それに GMP をわずか 0.2 mM という低濃度だけ共存させます。それ自身はほとんど応答はできませんが、共存させるとこのように低濃度から大きな応答が現れます。ですから、両者を混ぜると非常に大きな相乗作用があるという、人間でみられた現象が、イヌでも観測されたわけです。この図は MSG の全濃度領域で応答を調べたものです。こちらが MSG 単独の場合、こちらが GMP 存在下です。最大応答値はあまり変わりませんが、MSG の低濃度領域で大きな応答が現れます（スライド 33）。このメカニズムとしては、アロステリックモデルのようなことを考え

ればいいかと思います。レセプター蛋白には MSG がつくサイトと、GMP や IMP がつくサイトが2つあって、たとえば GMP がつくとき MSG に対する親和性が増し、MSG がつくとき GMP に対する親和性が増す。その結果、相乗作用が現れるだろうと思われます（スライド 34）。

イヌの種類によって多少違いますが、たとえばビーグ

ル犬ですと AMP と IMP と GMP が相乗作用を示します。また AMP と同じように ADP や ATP も作用があります。ですから、モノフォスフェイトである必要はありません。ただ 5' の位置にリン酸基がついていることが必要です。イヌの種類によっては AMP がきかないものもありますが、これは人間のうま味応答と非常によく似ています（スライド 35）。

相乗作用は MSG と GMP や IMP の間だけに起こり、他のいわゆる基本味とヌクレオチドの間では起こりません。これも人間の場合とよく似ております（スライド 36）。

今度は苦味の話をしてします。苦味物質は、いろいろな構造をしていまして、苦味と化学構造との関係を論ずることは非常に困難です。そもそも多くの薬は非常に苦いわけですが、薬の構造は互いに非常に違うのに、なぜ苦いのかという疑問が昔からあります（スライド 37）。

私どもは、さきほどもいったように、苦味に対してはレセプターがなくてもいいと考えています。さきほどニオイのところに出てきましたアゾレクチンリボソームに苦味物質を与えると、膜電位変化が起こります。横軸に

スライド 36.

スライド 37.

アゾレクチンリポソームで膜電位変化が起こる最低の濃度を取り、縦軸に人間がどの位の濃度から苦味を感じるかという閾値濃度をとります。そうしますと、この図に示すように、両者の間に良い相関関係がみられます (スライド 38)。

スライド 38.

苦味物質の中には、フェニルチオカルバミド (PTC) という味盲テスト物質があります。味盲というのは言葉はよくないのですが、PTC を苦いと感じる人と、苦く

スライド 39.

スライド 40.

ないと感じる人がいます。これは遺伝的に決まっています。PTC に苦味を感じない人の味細胞には、ある特異的な受容蛋白質が欠落していると、普通は考えられています (スライド 39)。

私どもは、特別な蛋白質が欠落していると考えなくても、PTC に苦味を感じない人の味細胞は、脂質組成が少し違っていると考えればよからうといったいわけです。なぜかといいますと、普通の苦味物質はいろいろな脂質組成のリポソームに、多かれ少なかれ脱分極性の膜電位変化を引き起こします。これに対して、PTC やその関連物質は少し脂質組成を変えると応答しないか、ないしは過分極方向の膜電位を引き起こします。非常に脂

質組成に依存します。ですから、PTC に苦味を感じない人は、脂質合成に関与するどこかの酵素が少し違うのかもしれませんが、いずれにしても、味細胞膜の脂質組成が違うということで、味盲現象は説明できると思っています (スライド 39)。

最後に受容器電位がどうして発生するかという話をいたします。

受容器電位の発生に関しては、いろいろな考えがあります。1つは、味受容膜をイオンが透過することにより電位が発生するという考えです。これに対して、私どもは受容膜に刺激物質が吸着すると、界面の電位が変化して膜電位変化が起こるのだらうと主張しています。

どちらの考えが正しいかは、現在論争中です。

まず簡単な脂質 2 分子膜の実験から説明します。これはモンテール型の脂質 2 分子膜で、単分子膜を 2 枚貼り合わせて作ります。苦味物質を片側のチャンバーに入れてみます。この場合膜の両側のチャンバーには、ともに 100 mM の NaCl を入れておきます。つまりイオン濃度勾配がない条件下で、片方に苦味物質を入れます。

こういう条件下でも、苦味を入れると膜電位変化が起こります。この現象は、イオン透過では絶対説明できません。界面電位の変化により、膜電位が変化したわけです (スライド 40)。

抵抗の高い脂質 2 分子膜の場合は、膜電位はほとんどの場合界面電位の変化に由来すると思っています。たとえば塩による膜電位変化を考えてみます。カルシウムイ

スライド 41.

スライド 42.

スライド 43.

スライド 44.

オンとランタンイオンの場合を比べてみますと、ランタンの方がより低濃度から膜電位変化を示します。ランタ

ンイオンの方がカルシウムイオンより明らかに膜を透過しにくいのに、カルシウムイオンより低濃度で、しかも

カエルの味覚器水応答の発生機構

スライド 45.

ネルンストスロープよりもはるかに大きなスロープの膜電位変化を示します。こういう現象は、いわゆる拡散電位では説明できません。明らかに界面電位の変化により膜電位変化が起っています (スライド 41)。

抵抗の高い膜では、ランタンイオンによる電位変化が長時間持続しますが、バリノマイシンを入れて抵抗を低くしますと、ランタンによる電位変化は時間とともに減衰します。ですから、生体膜でも膜抵抗の高い膜は、界面電位が非常に大きく膜電位に寄与するはずで、たとえば、味細胞とか、嗅細胞とか、神経芽細胞腫などの膜は、これに相当すると思います。ただ多くの神経細胞では、膜抵抗はあまり高くないので界面電位変化はすぐに消失してしまうと思います。

生体膜で、界面電位が膜電位に寄与しているかを直接調べるのはむずかしいのですが、1つはご承知のように ξ -電位を測る方法です。 ξ -電位は表面電位と類似の電位ですから、これを電気泳動で直接測れば、表面電位の情報が得られます。

さきほどでてきました神経芽細胞腫は、細胞電気泳動することができます。電気泳動で ξ -電位を測って、一方で膜電位を微小電極で測って比較してみました。この

場合、刺激物質としては、各種の多価陽イオンと酸を用いました。

電気泳動の方法は、この大会の実行委員長であります近藤先生に昔教えていただきました。図からわかるように、各種の陽イオンで変化する微小電極で測った電位変化は、 ξ -電位変化とよく対応しています。pH 変化の場合も、両者の変化は非常によく対応しています (スライド 42)。

以上は神経芽細胞腫のデータですが、実際の味細胞の場合はどうかということが問題です。たとえば KCl をラットの舌に与えますと、わずか 0.1 mM でも味覚応答を示します。0.1 mM というのは、味細胞の外液が 0.1 mM KCl であるということです。細胞中には、K イオンは 140 mM 程度存在しますので、この場合は K^+ は外から内へは絶対透過しないはずで、電気化学ポテンシャル差から考えると細胞内から細胞外に K イオンはでていくことになります。ですから、味受容膜で陽イオンチャネルが開いても、脱分極は起こりません。Na イオンの場合も同じ議論が成立します (スライド 43)。

イオン透過で説明できない現象の 1 つに、水応答があります (スライド 44)。

通常、動物の舌は粘液におおわれています。もともと粘液の中には塩が溶けていますが、舌に蒸留水を与えると、塩濃度が減るにもかかわらず脱分極が起こります。人間は水の味がしませんからこういう現象は起こりませんが、かなりいろんな動物で水応答がみられます。この現象をどう説明するかといいますが、もともと水応答のサイトはプラスの固定荷電をもってると仮定します。表面電位は、ご承知のようにイオン強度が高ければスクリーニング効果で抑制をされています。水を与えると、スクリーニング効果が解除されて、水応答が発生します。水応答は、刺激液に塩を入れるとイオン強度の関数で抑制されますが、これは表面電位がイオン強度の関数で抑えられることで説明できます (スライド 45)。

イオン強度で表面電位が抑制されるといういましたが、さきほど述べましたイヌの糖の応答やカエルの糖やアミノ酸の応答も高い塩でイオン強度の関数で抑制されます。イヌやカエルの場合、糖やアミノ酸の吸着で表面電位が変化し、味細胞が脱分極するものと思われます。この電位変化がイオン強度の関数で抑制されるものと思います。

どうも長い間御静聴ありがとうございました。

(受付 1989 年 8 月 31 日)