

ヤマモト タカシ
山本 隆

共同研究者

志村 剛

(大阪大学大学院人間科学研究科助教授 神経生理学)

乾 賢

(大阪大学大学院人間科学研究科助手 認知神経科学)

略 歴

1972年 大阪大学歯学部助手

1974年～1975年

米国ペンシルバニア大学モネル化学感覚研究所研究員

1986年 大阪大学歯学部助教授

1991年 大阪大学人間科学部教授

2000年 大阪大学大学院人間科学研究科教授
(行動生理)

食物に「こく」を与える物質の同定とその味覚効果に関する研究

The effect of glutathione on taste in mice

Glutathione (gamma-L-glutamyl-L-cysteinylglycine) is a well known tripeptide in organisms. Previous studies reveal that glutathione elicits the characteristic 'koku' flavor such as continuity, mouthfulness, and thickness in umami solution in humans. In the present study, we investigated the effect of glutathione on taste behavior in mice using behavioral tests and electrophysiological recordings. First, a two-bottle preference test of water and umami solution with or without glutathione, revealed that as in humans, glutathione enhances umami taste. Mice showed more preference to the mixture of umami substances and glutathione over umami substances alone. The enhancing effect of glutathione was shown only for 5'-inosine monophosphate (IMP) and the mixture of IMP and monopotassium L-glutamate (MPG) but not for MPG alone. Another behavioral study using the conditioned taste aversion (CTA) paradigm in mice showed that aversion conditioned to glutathione did not generalize to any of the four basic taste components or umami solutions. These results suggest glutathione are unlike any of the basic tastes. Glutathione is a sulfur-containing compound and has a unique odor. Thus, it is possible that its odor may be a cue to discriminating glutathione from other tastes. The electrophysiological recordings from whole-nerve responses to taste in the chorda tympani nerves showed glutathione induced gustatory response at a concentration over 0.01%. When glutathione was added, the synergistic response was shown only in IMP but not in MSG or a mixture of MSG and IMP. These results suggest that glutathione have distinct effects on IMP.

1. はじめに

食品学、調理学などでは、食物のおいしさの評価項目として、味や香りの他に、「こく」が重要な位置をしめる。こくはおいしさの厚み (thickness)、広がり (mouthfulness)、持続性 (continuity) といった要素に関わるとされているが、その定義は明確ではなくその本態についても科学的に明らかにされていない。

本研究では、こくとはおいしさを増強させるための要因であると解釈し、先行研究においてこくを生じさせる物質としてあげられているものの中からグルタチオン (L-_-Glutamyl-cysteinylglycine, GSH) を取り上げ、グルタチオンがどのようなしくみでこくを生じさせるのかを、動物を用いた実験で明らかにすることを目的としている。グルタチオンはグルタミン酸、システイン、グリシンの3種類のアミノ酸から構成されるトリペプチドである。含硫化合物であるグルタチオンは、種々の料理に調味素材として用いられるニンニクやたまねぎに含まれる¹⁾²⁾だけでなく、食品中に広く存在している³⁾。また、ヒトでは、うま味存在下でこくを呈するとされている⁴⁾。しかし、グルタチオンの味覚への影響を調べた研究例は未だ少数である。

以上の先行研究をふまえた上で、本研究ではマウスを被験体として、まず二ビン選択実験を行い、グルタミン酸カリウム (MPG)、イノシン酸ナトリウム (IMP) といったうま味物質にグルタチオンを添加した溶液を実際に好むかどうかを確認した。更に、舌前方部と舌後方をそれぞれ支配する味覚神経である鼓索神経と舌咽神経の活動を電気生理学的に記録し、グルタチオンの添加の有無による応答の違いを調べた。

2. 実験方法

2.1 行動学的実験

グルタチオンはヒトにおいて「こく」を呈するとされている。そこで、本研究の被験体であるマウスでも、グルタチオンが味溶液嗜好性に影響を与えるかどうかを調べるため、まず、二ビン選択法を用いて実験を行った。個別ケージで飼育中のマウスに、味溶液を満したボトルと、蒸留水を満したボトルを1本ずつ計2本呈示して48時間自由に摂取させた。途中、24時間目にそれぞれの摂取量を測定し、呈示位置による嗜好を防ぐために左右の呈示位置を入れ替えた。味溶液には、100mM MPG、1mM IMP、それらの混合物 (MPG+IMP) と、0.05% GSHを用いた。飼料は自由摂取とした。

2.2 汎化実験

GSHに対して嫌悪条件づけを行い、GSHに対する嫌悪がどの味に汎化するかを調べた。5日間のトレーニングの後、6、7日目に2回条件づけを行い、その翌日テストを行った。条件づけでは、条件刺激である0.5% GSHを20分間摂取させ、その直後に無条件刺激としてCTA群には体重の2%量の0.15M塩化リチウムを腹腔内投与した。対照群には同量の生理食塩水を腹腔内投与した。テストでは、各種味溶液の10秒間のリック数をカウントした。

2. 3 電気生理学的実験

被験体：

被験体として、C57Bl/6系雄性マウスを用いた。

鼓索神経記録：n = 13

舌咽神経記録：n = 5

通法により、深麻酔下のマウスから鼓索神経、舌咽神経の活動を記録した。

味刺激の呈示：

四基本味に対する神経の応答を確認した後、本実験で対象とする味刺激の呈示を行った。味刺激は、それぞれの神経が支配する領域に15秒間呈示し、その後蒸留水で洗浄した。使用した味刺激は以下のとおりであった。

- ・ 0.005% グルタチオン
- ・ 0.01% グルタチオン
- ・ 0.05% グルタチオン
- ・ 0.1% グルタチオン
- ・ 0.5% グルタチオン
- ・ 1.0% グルタチオン
- ・ 0.1 M グルタミン酸カリウム (MPG)
- ・ 0.001 M イノシン酸ナトリウム (IMP)
- ・ 0.01 M (0.3%) グルタチオン
- ・ 0.1 M グルタミン酸カリウム + 0.001 M イノシン酸ナトリウム (M+I)
- ・ 0.1 M グルタミン酸カリウム + 0.01 M グルタチオン (M+G)
- ・ 0.001 M イノシン酸ナトリウム + 0.01 M グルタチオン (I+G)
- ・ 0.1M グルタミン酸カリウム + 0.001 M イノシン酸ナトリウム + 0.01 M グルタチオン (M+I+G)

3. 実験結果

3. 1 行動学的実験

GSH濃度による嗜好性の変化を図1に、GSHの添加によるうま味溶液嗜好性の変化を図2に示す。GSH濃度が0.05～0.5%では、水に対する嗜好率は0.7以上で、マウスのGSH嗜好性は高いものだった。更に、0.01%以下の低濃度GSHに比べ嗜好性が有意に高かった。また、GSHの添加により、IMP溶液の嗜好性が添加前に比べて有意に上昇したが、MPG、MPGとIMPの混合味溶液(MPG+IMP)では添加前後で嗜好性に有意な差は見られなかった。

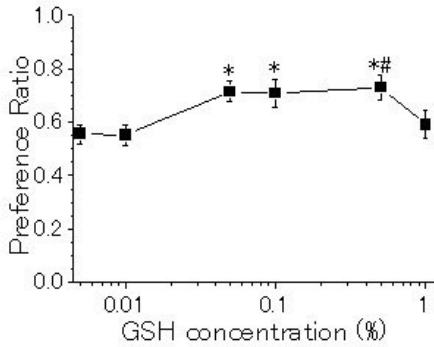


図1 グルタチオン濃度による嗜好性の変化。各値は平均値±S.E.M.。n=13。*は0.005%GSH、0.01%GSHとの間にp<0.01、#は1.0%GSHとの間にp<0.05で有意差があることを示す。

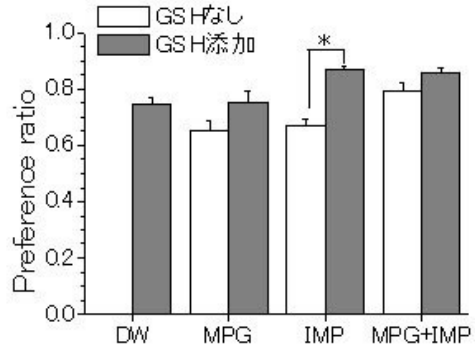


図2 グルタチオン添加によるうま味溶液嗜好性の変化。各値は平均値±S.E.M.。n=9。*p<0.05

3.2 汎化実験

GSHに対する味覚嫌悪条件づけの効果を図3に示す。条件づけ時に塩化リチウムを投与されたCTA群マウスでは、対照群に比べてGSHのリック数が有意に減少したことから、CTA群はGSHに対する味覚嫌悪学習を獲得したことがわかる。しかし、四基本味である100mMシヨ糖、100mM塩化ナトリウム、10mM塩酸、0.1mM塩酸キニーネのリック数は、CTA群、対照群の両群で差がなかった。

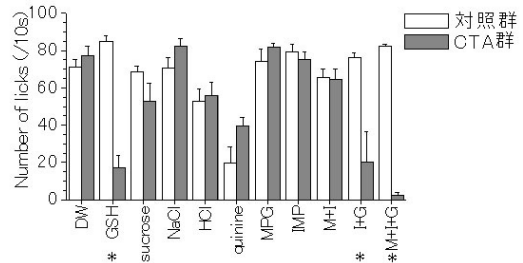


図3 0.5%グルタチオンに対する味覚嫌悪づけの効果。縦軸は10秒間のリック回数、各値は平均値±SEMを示す。(G:GSH, M:MPG, I:IMP) n=4~10。*p<0.05

同様に、うま味物質である100mM MSG、10mM IMPの各味溶液のリック数も両群でほぼ等しかった。うま味であるIMP、MPG+IMPにGSHを添加すると、CTA群のリック数は有意に減少した。

3.3 電気生理学的実験

様々な濃度のグルタチオン溶液に対する鼓索、舌咽神経の応答を図4に示した。様々な濃度のグルタチオン溶液に対する応答を記録した結果、鼓索神経では0.005%の濃度ではほとんど応答が見られなかった。しかし、0.01%以上の濃度では、濃度依存的に応答は大きくなった。舌咽神経でも、鼓索神経と同様に0.01%以下ではほとんど応答がみられず、0.01%以上の濃度で濃度依存的に応答は大きくなった。応答の大きさも両神経でほぼ等しかった。

鼓索神経の味刺激に対する応答を図5に、舌咽神経から記録した応答の大きさを図6に示す。うま味物質の応答については、鼓索神経ではグルタミン酸カリウム (MPG) の応答はグルタチオンと同程度だったが、イノシン酸ナトリウム (IMP) の応答は非常に小さかった。また、グルタミン酸カリウムとイノシン酸ナトリウムの混合物質 (M+I) では、相乗効果が見られた。これらの物質にグルタチオンを添加すると、MPG、M+Iでは相乗効果は見られなかったが、IMPでは相乗効果と非常に持続性の強い応答が記録された。一元配置分散分析の結果、鼓索神経では、グル

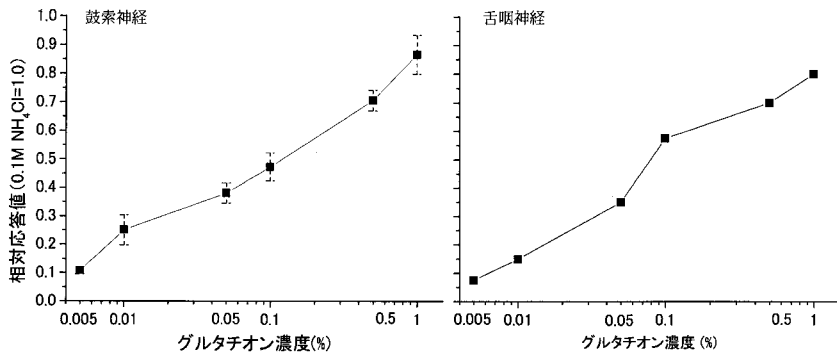


図4 様々な濃度のグルタチオン溶液に対する鼓索、舌咽神経の応答 (左:鼓索神経 (n=7)、右:舌咽神経 (n=1))。各値は、グルタチオン溶液に対する神経応答の平均値±標準誤差を示す。応答値は0.1M 塩化アンモニウム (NH₄Cl) の応答を1.0として相対化したものである。

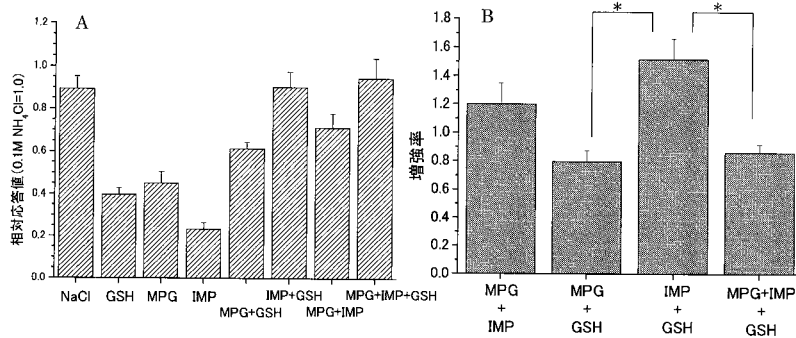


図5 各味溶液に対する鼓索神経の応答値 (A) とグルタチオン (GSH) の増強効果 (B)
 A: 各値は味刺激に対する鼓索神経の相対応答値の平均値±標準誤差を示す。応答値は0.1 M 塩化アンモニウム (NH₄Cl) の応答を1.0として相対化したものである。n=13
 B: 各値は、グルタチオンまたはうま味の増強率の平均値±標準誤差を示す。*p<0.01、n=13

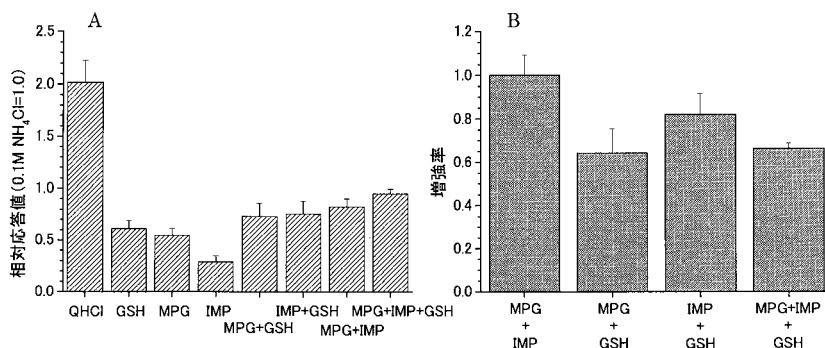


図6 各味溶液に対する舌咽神経の応答値 (A) とグルタチオン (GSH) の増強効果 (B)
 A: 各値は味刺激に対する舌咽神経の相対応答値の平均値±標準誤差を示す。応答値は0.1M 塩化アンモニウム (NH₄Cl) の応答を1.0として相対化したものである。n=6
 B: 各値は、グルタチオンまたはうま味の増強率の平均値±標準誤差を示す。n=6

タチオンの増強率で溶液間に有意差が見られ[F (2, 32) = 16.54, p< 0.01]、下位検定の結果、I+Gの増強率はM+G (p<0.01)、M+I+G (p<0.01) よりも有意に大きかった。

舌咽神経では、うま味物質であるMPGの応答はグルタチオンと同程度であった。標準化した応答の大きさは鼓索神経より大きかった。IMPに対する応答は非常に小さかった。また、M+Iでは相乗効果が見られた。うま味物質にグルタチオンを添加しても、応答はわずかに大きくなっただけで、M+G、I+G、M+I+Gのいずれにおいても相乗効果は見られなかった。一元配置分散分析の結果、舌咽神経では、グルタチオンの増強率で溶液間に有意差が見られなかった。

4. 考 察

ヒトでもマウスでも、うま味物質であるグルタミン酸やイノシン酸の嗜好性は高い。本研究ではそのうま味溶液に「こく」を呈するとされている物質であるグルタチオンを添加したところ、嗜好性は更に高くなった。これは、グルタチオンがうま味の風味を増強したためだと考えられる。グルタチオンはヒトではこくを生じるとされている²⁻⁴⁾が、ヒト以外の動物がこくを感じているのかどうかを明確に判断することは困難であり、グルタチオンの添加によってマウスがこくを感じていると断定することはできない。しかし本研究から、グルタチオンは、マウスにおいてもうま味嗜好性増強効果を持つ物質であることが確認された。また、その増強効果は、グルタミン酸ではなくイノシン酸で強いことが明らかとなった。

味覚嫌悪条件づけの結果、グルタチオンに対する嫌悪はうま味を含む五基本味のいずれの味にも汎化しなかった。しかし、行動実験や神経活動記録の結果から、グルタチオンが新たな基本味であるとは考えにくい。グルタチオンは含硫化合物であるため、かすかな匂いを持つ⁴⁾。そのため、この匂いが味の識別の際に手がかりとなっている可能性が考えられる。

鼓索神経の活動の結果から、鼓索神経におけるグルタチオンの閾値は0.01%付近であると考えられる。これは、0.01%以下の濃度では蒸留水と同程度の嗜好性を示すという行動実験の結果ともほぼ一致している。しかし、鼓索神経はマウスでは、塩味、酸味によく応答する。グルタチオン溶液はpHが低く強い酸性度を持つことから、今回の実験で得られた応答が、グルタチオン溶液中の酸の応答である可能性もある。

グルタチオンに対する応答は、鼓索神経でも舌咽神経でも0.005%ではほとんど応答が見られず、0.01%以上では濃度依存的に大きくなった。そのため、両神経のグルタチオンに対する閾値は0.005~0.01%の間にあることが示唆された。両神経で各濃度における応答の大きさがほとんど変わらなかったことから、グルタチオン単体の味の情報処理には鼓索、舌咽の両神経がほぼ等しく関与していると考えられる。しかし、舌咽神経については例数が少ないため信頼性が低く、より例数を増やすことが必要である。

鼓索神経からの記録では、M+G、M+I+Gでは相乗効果は見られなかったが、I+Gで相乗効果と、強い持続性を示す応答が得られた。I+Gで相乗効果が見られたという結果は、イノシン酸にグルタチオンを添加することによって嗜好性が上昇したという行動学的実験結果と一致している。また、低濃度のM+Iの味溶液では、グルタチオンの添加によって嗜好性の上昇が見られた。そのた

め、本実験においてM+I+Gで相乗効果が見られなかったのは、M+Iの応答が大きいためそれ以上応答が増大できなかった可能性もあり、より低濃度の溶液で実験する必要がある。

I+Gでのみ相乗効果が見られたことから、この相乗効果はグルタチオン中のグルタミン酸とイノシン酸とのうま味の相乗効果である可能性がある。ラットでも、マウスでもグルタミン酸とイノシン酸の間に相乗効果が生じることは広く知られている。

舌咽神経からの記録では、M+Iで相乗効果が見られた。マウスの舌咽神経には、うま味物質であるグルタミン酸ナトリウム (MSG) に特異的に応答するMSGベスト線維が存在しており、シヨ糖ベスト線維とともに相乗効果をもつことが報告されており⁵⁾、本実験の結果と一致している。しかし、舌咽神経では、鼓索神経と異なり、I+Gで相乗効果が見られず、強い持続性を示す応答も得られなかった。そのため、グルタチオンがイノシン酸の嗜好性を上昇させる効果に関しては、鼓索神経が重要な役割を果たし、舌咽神経は関与していない可能性がある。しかし、舌咽神経のI+Gの増強率は、相乗効果はみられないものの、M+G、M+I+Gの増強率よりも高いことから、舌咽神経も鼓索神経ほどではないがグルタチオンの効果にある程度関与しているのではないかと考えられる。また、舌咽神経が支配する葉状乳頭、有郭乳頭は舌後方に位置し、溝に面して味蕾が存在することから刺激が困難である。そのため、味刺激が十分に呈示されていなかった可能性もある。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました財団法人アサヒビール学術振興財団に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Ueda Y, Sakaguchi M, Hirayama K, Miyajima R, Kimizuka A: Characteristic flavor constituents in water extract of garlic. *Agric. Biol. Chem.* 54, 163-169 (1990)
- 2) 上田要一：だし中の“こく”、“あつみ”成分の研究. 日本味と匂学会誌 4, 197-200 (1997)
- 3) 宮村直宏：“こく”を作り出す製造・加工法. ～天然系調味料の開発経験から～ 日本味と匂学会誌 9, 147-151 (2002)
- 4) Ueda Y, Yonemitsu M, Tsubuku T, Sakaguchi M, Miyajima: Flavor characteristics of glutathione in raw and cooked foodstuffs. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61, 1977-1980 (1997)
- 5) Ninomiya Y, Funakoshi M: Qualitative discrimination among “umami” and the four basic taste substances in mice. In Y Kawamura, MR Kare (Eds), *Umami: A Basic Taste*. New York, Marcel Dekker, pp. 75-93 (1987)