

氏名	美 藤 純 弘
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博乙第 3205 号
学位授与の日付	平成10年3月25日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文題名	塩味受容機構：カエル舌咽神経のNaおよびMg応答に対するNiの増強効果
論文審査委員	教授 古田裕昭 教授 杉本朋貞 教授 足立 明

### 学位論文内容の要旨

#### 【緒言】

味刺激により味細胞は脱分極し、シナプスを介して神経線維にインパルスが発生する。この神経線維のインパルスにより味覚情報は中枢へと伝えられる。

複数の味物質の混合液の味覚の強さは必ずしもそれぞれ単独の味物質による味覚の強さの総和にならない。例えば、グルタミン酸ソーダ液にイノシン酸ソーダを加えると旨味が数倍も強くなる。このアミノ酸と核酸の相乗効果は、中枢レベルで起こるのでなく、味物質と味細胞の受容膜の相互作用に起因すると考えられている。このように受容膜レベルで、すでに生体は味覚情報処理を行っているが、味覚受容の初期過程は十分に理解されているとはいえない。カエル舌咽神経の神経応答は種々の塩の混合により抑制されたり増強されたりするので、この神経応答を調べることは上記の味物質と受容膜の相互作用の理解につながる。

カエル舌咽神経は0.1 mM以上のCaCl<sub>2</sub>、10 mM以上のMgCl<sub>2</sub> (Mg応答)、100 mM以上のNaCl (Na応答)の味覚刺激に応答する。ところがCa応答はMgおよびNaにより競合的に抑制され、MgおよびNa応答はCaにより競合的に抑制されることが報告されている。またCa、MgおよびNaイオンはagonistとしてそれぞれ異なる受容体に作用し応答を引き起こすと推定された (Kitada, 1989, 1991)。さらに遷移金属イオン (Ni, CoおよびMn) はCa、MgおよびNa応答を増強することが報告されたが、遷移金属イオンによる増強作用のメカニズムはまだ分かっていない。本研究はNiイオンによるNa応答およびMg応答の増強効果のメカニズムを定量的に解析したものである。

#### 【材料ならびに方法】

実験にはウシガエル (*Rana catesbeiana*) の摘出舌標本を用いた。吸引電極法により感覚単位のインパルスを記録した。蒸留水に溶かしたCaCl<sub>2</sub> (0.5-2 mM)、MgCl<sub>2</sub> (5-200 mM)

および NaCl (5-500 mM) を単独液または、混合液の刺激溶液として用いた。更に遷移金属塩の中で陽イオン応答を最も増強させる NiCl<sub>2</sub> (1mM) を加えた刺激溶液も用いた。刺激中に生じた単一神経線維のインパルス頻度を応答の大きさの指標とした。

### 【結果および考察】

#### 1. NaおよびMgの閾値濃度へのNiによる影響

1mM NiCl<sub>2</sub> をNaCl溶液に加えるとNaClの閾値濃度は100 mMから10 mMにまで減少した。しかし、MgCl<sub>2</sub>の閾値濃度の10 mMはNiによって変わらなかった。

#### 2. Niによって増強されたNa および Mg応答に対する Caの抑制作用

Niによって増強されたNa応答および Mg応答はNiが存在しない時と同様にCaにより抑制された。この場合、Caにも興奮効果があるが、混合液ではCaの興奮効果は比較的高い濃度のNaおよびMgにより抑制されるので現れない。本実験ではNiによって増強されたNa応答およびMg応答に対するCaの抑制が競合拮抗によるのかどうか調べた。Ni存在下で、0.5-2 mM CaCl<sub>2</sub>をNaCl溶液およびMgCl<sub>2</sub>溶液に加え、NaClおよびMgCl<sub>2</sub>の用量応答曲線を求めた。応答の大きさの逆数と濃度の逆数の両逆数プロットの解析を行ったところ、CaはNa応答およびMg応答を競合的に抑制することが分かった。またNiの作用はNa受容体のNa (agonist) およびCa (competitive antagonist) に対する親和性を5倍高めるが、Mg受容体のMg (agonist) およびCa (competitive antagonist) に対する親和性には影響を与えなかった。また、NiはNa応答およびMg応答の最大応答値をそれぞれ1.9倍および2.7倍にまで大きくすることが分かった。

3. 以上の結果から、Niの作用機序は次のように考えられる。Niは陽イオン相互の競合抑制に影響を与えないので、Niは陽イオン受容体に二次的に作用する。受容膜にはNiと結合する膜要素があり、Niとこの膜要素の複合体が陽イオン受容体に影響を与える。また、Ni-膜要素の複合体はagonistと受容体の複合体に作用し、応答を増強させるが、competitive antagonist と受容体の複合体には影響を与えない。

### 【結論】

カエル舌咽神経の単一神経線維のNa応答およびMg応答に対するNiの増強効果および、Niによって増強されたNaおよびMg応答に対するCaの抑制効果を定量的に調べた。Niは二次的に受容体に作用しNa応答およびMg応答を増強すること、またCaはNiで増強されたNa応答とMg応答を競合的に抑制することが分かった。NiはNa受容体の陽イオン親和性を5倍高めるが、Mg受容体の陽イオン親和性を変えなかった。また、NiはNa応答とMg応答の最大応答値を2～3倍大きくした。このようにNa応答とMg応答の増強効果はほぼ同じであるから、たとえ、受容体が異なっても両イオンの受容機構には共通の味覚受容変換機構が存在するものと思われる。また、Niによる応答増強作用はNiがagonistと受容体の複合体にのみ影響を与えることで応答を増強させると考えると実験結果を説明できる。

## 論文審査結果の要旨

味刺激は味細胞を脱分極し、シナプスを介して味覚神経線維にインパルスを発生させる。しかし、複数の味物質の混合液を与えた場合、それぞれ単独の味物質による味覚の単純な加算になるわけではなく、味細胞の受容膜の相互作用に起因する複雑な味覚受容初期過程が存在する。カエル舌咽神経の神経応答は種々の塩の混合により抑制されたり増強されたりするので、受容膜レベルでの味覚受容の初期過程のメカニズムを知るのに最適な材料である。本研究では質量作用の法則から導かれたいわゆるBeidlerの式、酵素反応の速度論式でよく知られているLineweaver-Burkの式を利用してNaイオンとCaイオン、あるいはMgイオンとCaイオンとの間に認められる相互抑制が競合抑制によるものであることを明確にし、Na、Mg受容体の存在を明らかにした。また、遷移金属イオンであるNiイオンはNa、Mg受容体に直接作用するのではなく、二次的に作用して陽イオン応答を増強することを明らかにした。よって本研究者は博士（学術）の学位を得る資格があると認める。