

## 渋味溶液の舌刺激による ラット舌神経と鼓索神経の応答

美甘 真

### 緒言

口腔内に摂取された食物は様々な感覚を引き起こす。その中でも味覚は、食物に含まれる味物質が唾液と混和して舌や軟口蓋、咽頭に存在する味蕾へ到達し味細胞を脱分極させ、味神経を介して中枢へと送られることで感知される。味覚の種類は、甘味、塩味、酸味、苦味、うま味の5基本味として考えられている。その他にも辛味や炭酸の刺激味、渋味、金属製の味、えぐ味などが知られている。

特に渋味は、果物や野菜、お茶やワインといったさまざまな飲食物で生じる感覚である<sup>1)</sup>。渋味物質は、ポリフェノール、アルミニウムや亜鉛といった多価の陽イオン、アルコールやジメチルケトンといった脱水剤であると報告されている<sup>2)</sup>が、これら渋味物質は従来より味受容器と口腔の体性感覚受容器を刺激するという考えがある。

電気生理学実験では、マウス<sup>2)</sup>やラット<sup>2,3)</sup>、アフリカツメガエル<sup>1)</sup>といった様々な生物の鼓索神経や舌咽神経から神経インパルスの記録がされている。これらの報告から渋味は味覚であると考えられ、特にポリフェノールは苦味を惹起すると考えられていた<sup>4)</sup>。また、舌神経でも渋味刺激の記録を試みているが応答は記録されず、口腔粘膜上皮での感覚がどのように中枢へ伝えられているのか不明であった。このため、渋味は体性感覚ではないと報告されていた<sup>3)</sup>。

一方で、渋味は味覚ではなく体性感覚とも言われている<sup>5)</sup>。唾液中に含まれる高プロリンタンパク、ヒスタチン、 $\alpha$ -アミラーゼ、ラクトフェリン、ムチンなどとポリフェノールが架橋結合し、唾液の潤滑性が失われてしまう<sup>6,7)</sup>。これにより粘膜上皮での摩擦が増え、口腔粘膜の乾燥や収縮といった体性感覚に近い感覚を惹起すると考えられている<sup>8)</sup>。Greenは渋味の体性感覚について調べるため、ヒトの上口唇の粘膜面へ蒸留水もしくは渋味物質である硫酸アルミニウムカリウムを塗布し、口唇の運動により渋味を惹起するか実験を行ったところ、蒸留水と比較し硫酸アルミニウムカリウムで渋味を強く発現すると報告している<sup>9)</sup>。また、Breslinらは、渋味物質のミョウバンと混合溶液(スクロース、塩酸、キニーネ硫酸塩)をそれぞれ上口唇に塗布するとミョウバンで強い渋味を惹起すると報告している<sup>5)</sup>。これらの報告と上口唇粘膜には味蕾が存在しない<sup>10)</sup>ことから、渋味は体性感覚であると提唱した。

このように、渋味刺激の神経応答は味神経である鼓索神経と舌咽神経でしか確認されて

おらず、舌神経応答が確認された報告はない。しかし渋味が体性感覚であるという報告もあることから、体性感覚神経からの応答が記録できると考えられる。そこで、味覚と体性感覚の両方を感知する舌への渋味刺激を行い、体性感覚を司る舌神経と味覚を司る鼓索神経から神経応答の記録し、渋味の求心性情報について調べることを本研究の目的とした。

## 材料ならびに方法

### I. 動物と麻酔

本研究は岡山大学動物実験施設倫理委員会（OKU-2012511）の承認を得て行った。実験には、体重約 270～350g の Wistar 系雄性ラット（Japan SLC, Inc, Japan）を使用し、ウレタン（1.0g/kg, i.p.）による麻酔を行った。術中にも適宜ウレタンを追加投与し、ラットの後肢をつまんだ際に体動が生じないレベルに麻酔深度を維持した。

### II. 刺激溶液

渋味刺激としてタンニン酸（0.3mM, 1mM, 3mM, 10mM, 30mM; SIGMA-ALDRICH, USA）、アンモニウムミョウバン（ $\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ; 0.3mM, 1mM, 3mM, 10mM, 30mM; SIGMA-ALDRICH, USA）を、蒸留水を溶媒として作製し用いた。また、対照刺激として冷水と 100mM NaCl（以下 NaCl; NACALAI TESQUE, JAPAN）を作製して用いた。冷水の温度は約 4℃、その他の溶液は室温（約 25℃）とした。そして、機械的刺激として無鉤ピンセットによる触刺激を行った。

### III. 気管カニューレの挿管

頸部腹側から皮膚を切開し、胸骨舌骨筋を左右に開いて気管を剖出しカニューレを挿入した。剖出した気管を切開し、ポリエチレンチューブ（IGARASHI IKA KOGYO CO, LTD, Japan）を尾側方向へ挿入し気管と結紮して固定した。

### IV. 舌神経、鼓索神経の剖出

ラットを固定台へ側臥位に固定し左側頬部の体毛を剃ったのち、皮膚を切開して左側咬筋を露出した。左側咬筋を下顎角付着部より剥離し下顎骨下顎枝を露出し切断したのち、内側翼突筋および周囲組織より下顎枝を切除した。舌より感覚・味覚情報を伝える舌神経および鼓索神経を手術用実態顕微鏡（M300, LEICA, GERMANY）下で露出し、それぞれの神経を周囲組織より遊離した。

### V. 神経応答の記録

遊離した神経は頭蓋底に入る部分で切断し、その末梢側で神経応答の記録を行った。記録には銀-塩化銀ワイヤー電極を用い、切断末梢側から舌の求心性神経応答を記録した。不閉電極は手術野近くに設置し、遊離した各神経はミネラルオイル (SIGMA DIAGNOSTIC, INC, USA) およびワセリン (WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD, JAPAN) を混和したものに浸漬させ、周囲組織からの絶縁性維持と神経の乾燥防止を図った。なお、鼓索神経は NaCl で、舌神経は剖出後に神経束をさらに細くしピンセットによる舌刺激で、応答が認められるか確認を行い神経応答の記録を行った。

記録手順を示す (図 1)。神経応答が安定している状態を確認した後、刺激溶液滴下を開始し 10 秒間舌刺激を行った。滴下終了から 20 秒は何も刺激をせずそのままの状態を保持した後、舌上の刺激溶液を洗い流すため蒸留水を 10 秒間滴下し洗浄を行った。蒸留水の滴下終了後、次の刺激溶液を滴下するまで最低 1 分以上時間を空けた。その間も舌を乾燥させないよう蒸留水の滴下を行い、直前で行った刺激溶液による影響が神経応答に現れていないことを確認し、新たな刺激溶液で刺激した。

導出した神経応答は、AC 増幅器 (DAM 50, WORLD PRECISION INSTRUMENTS, USA) で増幅し、オシロスコープ (DCS-7040, KENWOOD, JAPAN) で観察するとともに、データ解析装置 (PowerLab 8/30, ADInstruments, Australia) に取り込み、専用解析ソフト (Chart5, ADInstruments) を用いて解析した (図 2)。

## VI. 解析

導出した神経インパルスを解析装置で積分応答として変換・記録し、刺激溶液滴下中 10 秒間の応答積分値を算出した。冷水の応答積分値を 100 として刺激溶液の応答積分値との相対応答値を求め、濃度 - 応答直線と渋味閾値を算出した。

## 結果

### I. 舌の機械的刺激, NaCl, 冷水刺激による舌神経, 鼓索神経応答

機械的刺激, NaCl, 冷水刺激による舌神経, 鼓索神経応答の結果を示す (図 3)。舌神経は機械的刺激で応答を認めたが, NaCl では応答が認められなかった。一方, 鼓索神経は機械的刺激で応答を認められなかったが, NaCl では応答を認められた。冷水刺激では舌神経, 鼓索神経ともに応答が確認された。

### II. タンニン酸 30mM, アンモニウムミョウバン 30mM による舌神経, 鼓索神経応答

タンニン酸 30mM とアンモニウムミョウバン 30mM 舌刺激による舌神経, 鼓索神経応答の結果を示す (図 4)。両神経ともに刺激開始と同時に応答が認められ, 10 秒間刺激中も応

答が認められた。刺激終了後の 20 秒間も応答が持続していることが観察された。しかし、その応答は刺激開始時と比較すると減弱していた。その後の蒸留水の洗浄では応答が減弱し、洗浄終了後には刺激開始前の安定した状態へ戻っていた。この洗浄による応答の減弱は、鼓索神経と比較し舌神経で大きく認められた。

### III. 冷水と各濃度タンニン酸，アンモニウムミョウバンによる舌神経，鼓索神経応答

対照刺激の冷水と各濃度タンニン酸，アンモニウムミョウバン刺激による舌神経，鼓索神経応答の結果を示す（図 5）。どちらの神経でも，タンニン酸，アンモニウムミョウバン刺激の応答は濃度が高くなるにつれて大きくなっていった。このことから，2つの渋味刺激による応答は濃度依存性であることが確認された。

### IV. 渋味刺激で応答を示さなかった舌神経

舌神経は応答記録前に神経束を細くし，機械的刺激で応答があった神経で冷水，タンニン酸，アンモニウムミョウバン刺激による応答を記録した。その細くした舌神経のうち，機械的刺激で応答を示すが冷水刺激で応答を示さなかった神経が観察された。この冷水で応答しなかった舌神経では，どの濃度のタンニン酸，アンモニウムミョウバン刺激でも応答が認められなかった（図 6）。このような神経束は記録を行った舌神経 22 本の内，4 本で確認された（約 18.2%）。

### V. 冷水応答を 100 としたタンニン酸，アンモニウムミョウバンの相対応答値

タンニン酸，アンモニウムミョウバン刺激から算出した相対応答値による濃度 - 応答直線を示す（図 7, n=10）。両神経において，2つの渋味物質の濃度が高くなるにつれて相対応答値も増加しており，使用した渋味物質の応答は濃度依存性であることが確認された。舌神経では，タンニン酸とアンモニウムミョウバンの直線が近似している（タンニン酸：18.209，アンモニウムミョウバン：13.14）のに対し，鼓索神経ではタンニン酸の直線の傾きがアンモニウムミョウバンのそれと比較し大きかった（タンニン酸：31.588，アンモニウムミョウバン：16.518）。また，それぞれの閾値を算出すると，舌神経のタンニン酸で約 0.15mM，舌神経のアンモニウムミョウバンで約 0.12mM，鼓索神経のタンニン酸で約 0.13mM，鼓索神経のアンモニウムミョウバンで約 0.04mM であった。

## 考察

### I. 舌刺激による舌神経・鼓索神経応答

本研究で，渋味を惹起するタンニン酸とアンモニウムミョウバン溶液の舌刺激により，舌

神経と鼓索神経の両方で応答が確認された (図 4, 5)。舌神経は舌の前方 2/3 の体性感覚を伝える神経であり、鼓索神経は同部の味覚を伝える神経である。渋味溶液による刺激を行う前に、舌神経と鼓索神経で対照刺激である機械的刺激と味覚刺激で応答が認められるか確認した (図 3)。その結果、機械的刺激による舌神経応答、NaCl による鼓索神経応答が認められたため、舌神経による体性感覚、鼓索神経による味覚の神経応答が記録できたと考えられた。渋味刺激で両神経とも応答が認められたことから、渋味は体性感覚と味覚の複合感覚であると考えられる。

舌神経は機械的刺激を伝える神経であるため、舌への刺激溶液滴下が機械的刺激として記録されている可能性が考えられた。刺激溶液滴下の機械的刺激が記録されていた場合、刺激溶液と洗浄のどちらの場合も応答が記録されるはずである。しかし、本研究の結果は刺激溶液による神経応答は記録されたが、蒸留水洗浄時には神経応答は確認されなかった (図 4)。また、濃度別にみた応答の結果 (図 5) と相対応答値 (図 7) から、渋味溶液の刺激応答が濃度依存性であることが確認されているため、溶質である渋味物質による応答であると考えられる。以上のことから、溶液滴下による機械的刺激は記録されておらず、渋味物質の作用により舌神経応答が記録されたと考えられた。

## II. 渋味物質と唾液

渋味の体性感覚は、唾液に含まれる高プロリントタンパクやムチンといった唾液タンパクとポリフェノールが架橋結合し、唾液の潤滑性が失われ口腔粘膜上皮の摩擦が上昇することで感知されるとされてきた<sup>5,7)</sup>。その渋味の感覚は、刺激後ゆっくりと強度が上昇し、長時間持続すると言われている<sup>8)</sup>。ポリフェノールと唾液タンパクの結合と、結合による唾液の沈殿には3段階モデルが提唱されており、徐々に唾液タンパクとポリフェノールが結合し時間をかけて大きい集合体が形成されるために渋味が時間経過で変化すると考えられている<sup>11)</sup>。

しかし、本研究では蒸留水による舌の洗浄を行っており、舌へ唾液が残存しているとは考えにくい実験条件であったが、渋味の応答が舌神経で確認された。今回の結果のように、渋味の発現には唾液が関与しないという報告もいくつかある。**Kallithraka** らは、ヒトでワイン摂取前後の唾液組成と摂取後の渋味感覚の変化について調べたところ、唾液タンパクと感覚量に相関が認められなかったことから、唾液タンパクの成分が渋味感覚の時間変化に直接的な関連がないと報告している<sup>12)</sup>。さらに、**Guinard** らもヒトで食品性状による耳下腺唾液量の変動を調べたところ、ワインの摂取で唾液量に変化が認められないが渋味は感知していたことから、唾液量と渋味に関連がなかったと報告している<sup>13)</sup>。本研究結果は、これらのヒト官能検査の結果を支持するものである。

しかしながら、唾液タンパクとポリフェノールが架橋結合し渋味の発現に関与する可能性があるため、動物実験においても唾液タンパクが舌に存在する実験条件下で渋味応答の時間経過を検討してみる必要がある。しかしラットの唾液に含まれる高プロリントタンパク

はヒトと比較して少ないため<sup>14)</sup>、その確保が困難であり本研究では用いなかった。一方、Guestらはヒトで人工的に口腔乾燥状態を引き起こし、渋味溶液を口腔内へ投与した際の感受性について調べており、口腔乾燥状態では平常時と比較して渋味よりも口腔湿潤感を強く覚えたと報告している<sup>15)</sup>。口腔乾燥状態では唾液が少ないため唾液タンパクとの結合が認められず、溶液自身による口腔湿潤とポリフェノールによる唾液分泌促進が引き起こされ湿潤感が増強したと考えられる。このことから、渋味刺激による唾液分泌についても検討する必要がある。

### III. 渋味の感受性と複合感覚の様相

本研究で、舌神経と鼓索神経で渋味の濃度依存性の応答が確認された。舌神経ではタンニン酸とアンモニウムミョウバンで感受性と閾値に大きな違いはなかったが、鼓索神経ではタンニン酸感受性が最も高く、アンモニウムミョウバンの閾値が約 0.04mM と最も低かった(図7)。Iiyamaら、Brannanらは、タンニン酸は苦味に近く、ミョウバンは酸味に近い感覚であると報告している<sup>16,17)</sup>。また、培養細胞上で数種のポリフェノールは苦味受容器を活性化すると報告されている<sup>4)</sup>。しかし、ミョウバンの味覚受容器への作用については報告がなく、味覚受容器との関連は不明である。以上のように、渋味物質により味質が異なる可能性が考えられ、さらに鼓索神経応答の感受性、閾値の違いが認められることから、渋味の種類・濃度による感覚の違いは体性感覚より味覚の影響が強いものと推測される。

### IV. 渋味の体性感覚受容器

舌神経の渋味刺激の記録は、フィラメント状に細くした神経束で可能であった。Kawamuraらはラット舌神経の全神経束から渋味の神経応答記録を試みたが、神経応答は確認されなかったと報告している<sup>3)</sup>。Susanらも同様にラット舌神経で記録を試みており、0.5M 酒石酸のみ神経応答を確認している<sup>2)</sup>。これらの研究では、舌神経を細くして記録が行われていないことから、舌神経をフィラメント状に細くしたことで渋味刺激による応答が記録されたと考えられる。また本研究では、冷水刺激で応答した舌神経は渋味刺激でも応答を認めたが、冷水刺激で応答しなかった神経は渋味刺激で応答が認められなかった(図6)。この所見から、比較的細い神経末端に存在するポリモーダル受容器が渋味の受容に関与している可能性が推測される<sup>18)</sup>。ポリモーダル受容器はC線維の神経末端である自由神経終末上に存在する侵害受容器と言われており、熱刺激、冷刺激、機械刺激、化学刺激を受容するとされ、侵害刺激だけでなく非侵害刺激にも応答するとも考えられている<sup>19)</sup>。その受容器上には、様々な受容体が存在するが、その中に約 17°C以下の侵害性冷刺激で活性化する transient receptor potential channel ankyrin-1(以下 TRPA1)が存在するとされている<sup>20-22)</sup>。

TRPA1は約 17°C以下の侵害性冷刺激だけでなく、マスタードオイル(アリルイソチオシアネート)やシンナムアルデヒド、アリシンといった物質もアゴニストとして働き受容体を

活性化されている<sup>23)</sup>。この他にも、Nagatomo らはカフェインでマウスの TRPA1 は活性化されるが、ヒトの TRPA1 では活動が抑制されると報告しており、種の違いにより TRPA1 の活動効果が異なると考察される<sup>24)</sup>。さらに、Kurogi らは培養細胞上の TRPA1 で緑茶に含まれるポリフェノールの 1 種である没食子酸エピガロカテキンにより受容体が活性化されたと報告している<sup>25)</sup>。以上のように、TRPA1 のアゴニストにはさまざまな物質が報告されてきており、ポリフェノールも報告されていることからタンニンによる舌神経応答は TRPA1 が関与している可能性が推測される。

しかし、本研究では冷刺激に応答を示す舌神経が渋味応答に関与していることまでに留まっており、実際に TRPA1 を介し応答が認められているかまで詳細にできなかった。本研究に関連して、TRPA1 遮断薬の 1 つである HC-030031(約 5.63mM)の静脈内投与<sup>26)</sup>、または舌への直接投与を施したが、冷水刺激、渋味刺激ともに応答が抑制されなかった。TRPA1 がヒトやマウスの舌、咽頭の粘膜上皮に存在するが、味蕾には存在しないことは免疫組織学的手法により確認されている<sup>24,27)</sup>。しかし、in vivo 下で舌の TRPA1 に遮断薬を作用させている報告はないことから、高濃度の HC-030031 でも舌の TRPA1 には作用していないと考えられた。一方で、Arai らは in vivo のマウスで、温度受容器の transient receptor potential channel vanilloid-1(TRPV1)の遮断薬である iodo-resiniferatoxin(I-RTX)を、舌と咽頭に直接投与して味蕾へ作用させ TRPV1 の活性化が抑制されたと報告しており、味蕾の TRP に対して遮断薬が作用していた<sup>28)</sup>。このことから、TRP 遮断薬はその作用部位に感受性の違いがあることが推測され、HC-030031 が舌に存在する TRPA1 へ作用しなかったと考えられる。

また、ポリモーダル受容器上には他に TRPA1 と同様に TRPV1 やブラジキニン、ヒスタミン、プロスタグランジンといった炎症性サイトカインの受容体、そして機械受容チャネルが存在するとされている<sup>19)</sup>。これら受容体と渋味物質の作用、および TRPA1 をブロックすることによる渋味刺激応答の変化を確認し、渋味の受容がどのように行われているのか詳細にしていく必要があると考えられる。

さらに、Schöbel らは渋味物質によってもその神経活動の発生に違いがあると報告しており、ポリフェノールのうちガロイル基を 1 つ以上構造式に含むもので三叉神経節の神経細胞で神経応答が確認されている<sup>29)</sup>。タンニン酸は構造式にガロイル基を 5 つ有しており、本研究で舌神経応答が確認されていることから、ポリフェノールの体性感覚はガロイル基が関与している可能性も考えられる。一方で、アンモニウムミョウバンを代表物質とするミョウバンは多価の陽イオンにより渋味を惹起すると言われているが、その機序は解明されていない<sup>30)</sup>。しかし、pH が低い環境ではポリフェノールは渋味が強くなるが、ミョウバンは渋味が減弱すると報告されており、その働きが異なることが考えられる<sup>31)</sup>。詳細な機序は解明されていないがポリフェノールとミョウバンでは渋味を惹起する機序が異なると推測される<sup>8)</sup>。

## 結論

渋味溶液によるラットの舌刺激により、舌神経と鼓索神経の両方で応答が確認された。その応答はⅠ．濃度が高くなるにつれて大きくなっており濃度依存性であること、Ⅱ．鼓索神経応答は渋味物質により感受性が異なっていたこと、Ⅲ．冷刺激で応答のあった舌神経で渋味の応答が認められたこと、がわかった。以上の結果から、

- I. 渋味は体性感覚と味覚の複合感覚であり、その感覚の濃度・物質による違いは味覚の影響が大きい
- II. 渋味による体性感覚は冷刺激に応答を示す神経が関与しており、比較的細い神経であるポリモーダル受容器が渋味の受容に関与している

と考えられる。

## 謝辞

稿を終えるに当たり、本研究を行う機会を与えて頂いた岡山大学大学院医歯薬学総合研究科咬合・有床義歯補綴学分野 皆木省吾教授に謹んで感謝の意を表します。また、本研究の実施に際し、終始懇切なる御指導と御教授を賜りました岡山大学大学院医歯薬学総合研究科口腔生理学分野 松尾龍二教授に深く感謝致します。最後に、本研究を行うに当たり、多くの御援助と御協力を頂きました岡山大学大学院医歯薬学総合研究科咬合・有床義歯補綴学分野および岡山大学医歯薬学総合研究科口腔生理学分野の諸先生方に心から御礼申し上げます。

## 文献

- 1) Yamashita S, Kiyohara S, Ohno M, Hara Y.: Specificity of glossopharyngeal nerve responses to astringent compounds in xenopus. *Chem. Senses*, **21 (4)**, 495-465, 1996.
- 2) Susan, S.S., Mark, S.S., Ann, L.S., Sidney, A.S.: Chorda tympani and Lingual nerve responses to astringent compounds in rodents. *Physiol. Behav.*, **51**, 55-63, 1991.
- 3) Kawamura Y, Funakoshi M, Kasahara Y, Yamamoto T.: A neurophysiological study on astringent taste. *Jpn. J. Physiol.*, **19**, 851-865, 1969.

- 4) Soares S, Kohl S, Thalmann S, Mateus N, Meyerhof W, De Freitas V.: Different phenolic compounds activate distinct human bitter taste receptors. *J. Agric. Food Chem.*, **61 (7)**, 1525-1533, 2013.
- 5) Breslin, P.A.S., Gilmore, M.M., Beauchamp, G.K., Green, B.G.: Psychophysical evidence that oral astringency is a tactile sensation. *Chem. Senses*, **18 (4)**, 405-417, 1993.
- 6) Lim J, Lawless, H.T.: Oral sensations from iron and copper sulfate. *Physiol. Behav.*, **85**, 308-313, 2005.
- 7) Lee, C.A., Ismail B, Vickers, Z.M.: The role of salivary proteins in the mechanism of astringency. *J. Food Sci.*, **77 (4)**, C381-C387, 2012.
- 8) Bajec, M.R., Pickering, G.J.: Astringency: mechanisms and perception. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **48 (9)**, 1-18, 2008.
- 9) Green, B.G.: Oral astringency: a tactile component of flavor. *Acta Psychol. Amst.*, **84**, 119-125, 1993.
- 10) Jones, M.H.: A study of the 'common chemical sense' *Amer. J. Psychol.*, **67**, 696-699, 1954.
- 11) Jöbstl, E, O'Connell J, Fairclough, J.P., Williamson, M.P.: Molecular model for astringency produced by polyphenol/protein interactions. *Biomacromolecules*. **5 (3)**, 942-949, 2004.
- 12) Kallithraka S, Bakker J, Clifford, M.N.: Correlations between saliva protein composition and some T-I parameters of astringency. *Food Qual. Prefer.*, **12**, 145-152, 2001.
- 13) Guinard, J.X., Zoumas-Morse C, Walchak C.: Relation between parotid saliva flow and composition and the perception of gustatory and trigeminal stimuli in foods. *Physiol. Behav.*, **63 (1)**, 109-118, 1998.
- 14) Carlson D.M.: Salivary proline-rich proteins: biochemistry, molecular biology, and

- regulation of expression. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, **4(3-4)**, 495-502, 1993
- 15) Guest S, Essick G, Young M, Phillips N, McGlone F.: The effect of oral drying and astringent liquids on the perception of mouth wetness. *Physiol. Behav.*, **93(4-5)**, 889-896, 2008
  - 16) Iiyama S, Ezaki S, Toko K, Matsuno T, Yamafuji K.: Study of astringency and pungency with multichannel taste sensor made of lipid membranes. *Sens. Actuators B Chem.*, **24(1-3)**, 75-79, 1995.
  - 17) Brannan, G.D., Seter, C.S., Kemp, K.E.: Interaction of astringency and taste characteristics. *J. Sens. Stud.*, **16(2)**, 179-197, 2001.
  - 18) Toda K, Ishii N, Nakamura Y.: Characteristics of mucosal nociceptors in the rat oral cavity: an in vitro study. *Neurosci. Lett.*, **228**, 95-98, 1997.
  - 19) 高倉 公朋, 森 健次郎, 佐藤 昭夫: Pain - 痛みの基礎と臨床. 朝倉出版, 東京, 1988.
  - 20) Michael, X.Z.: Understanding the role of voltage gating of polymodal TRP channels. *J. Physiol.*, **585(Pt 2)**, 321-322, 2007.
  - 21) Michael B, Gina, M.S., Sun, W.H., Veena V, Samer, R.E., Matt, J.P., Taryn, J.E., Ardem P.: Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin. *Neuron*, **41**, 849-857, 2004.
  - 22) Story, G.M., Peier, A.M., Reeve, A.J., Eid, S.R., Mosbacher J, Hricik, T.R., Earley, T.J., Hergarden, A.C., Andersson, D.A., Hwang, S.W., McIntyre P, Jegla T, Bevan S, Patapoutian A.: ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell*, **112**, 819-829, 2003.
  - 23) Merrill, A.W., Cuellar, J.M., Judd, J.H., Carstens, M.I., Carstens E.: Effects of TRPA1 mustard oil and cinnamaldehyde on lumbar apinal wide-dynamic range neuronal responses to innocuous and noxious cutaneous stimuli in rats. *J. Neurophysiol.*, **99**, 415-425, 2008.

- 24) Nagatomo K, Kubo Y: Caffeine activates mouse TRPA1 channels but suppresses human TRPA1 channels. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **105 (45)**, 17373-17378, 2008..
- 25) Kurogi M, Miyashita M, Emoto Y, Kubo Y, Saitoh O: Green tea polyphenol epigallocatechin gallate activates TRPA1 in an intestinal enteroendocrine cell line, STC-1. *Chem. Senses*, **37**, 167-177, 2012.
- 26) Lin, Y.S., Hsu, C.C., Bien, M.Y., Hsu, H.C., Weng, H.T., Kou, Y.R.: Activations of TRPA1 and P2X receptors are important in ROS-mediated stimulation of capsaicin-sensitive lung vagal afferents by cigarette smoke in rats. *J. Appl. Physiol.*, **108**, 1293-1303, 2010
- 27) Peyrot des Gachons C, Uchida K, Bryant B, Shima A, Sperry, J.B., Dankulich-Nagrudny L, Tominaga M, Smith, A.B. 3rd, Beauchamp, G.K., Breslin, P.A.: Unusual pungency from extra-virgin olive oil is attributable to restricted spatial expression of the receptor of oleocanthal. *J. Neurosci.*, **31 (3)**, 999-1009, 2011
- 28) Arai T, Ohkuri T, Yasumatsu K, Kaga T, Ninomiya Y: The role of transient receptor potential vanilloid-1 on neural responses to acids by the chorda tympani, glossopharyngeal and superior laryngeal nerves in mice. *Neuroscience*, **165 (4)**, 1476-1489, 2010
- 29) Schöbel N, Radtke D, Kyereme J, Wollmann N, Cichy A, Obst K, Kallweit K, Kletke O, Minovi A, Dazert S, Wetzel C.H., Vogt-Eisele A, Gisselmann G, Ley, J.P., Bartoshuk, L.M., Spehr J, Hofmann T, Hatt H.: Astringency is a trigeminal sensation that involves the activation of G protein-coupled signaling by phenolic compounds. *Chem. Senses*, **39**, 471-487, 2014.
- 30) Lee C.B., Lawless H.T.: Time-course of astringent sensations. *Chem. Senses*, **16**, 225-238, 1991.
- 31) Peleg H, Bodine, K.K., Noble, A.C.: The influence of acid on astringency of alum and phenolic compounds. *Chem. Senses*, **23**, 371-378, 1998.

## 脚注

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 咬合・有床義歯補綴学分野（主任：皆木省吾教授）

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔生理学分野（指導：松尾龍二教授）

本論文の一部は、以下の学会において発表した。

第 55 回 歯科基礎医学会学術大会・総会 （2013 年 9 月，岡山）

第 56 回 歯科基礎医学会学術大会・総会 （2014 年 9 月，福岡）

## 図表の説明

### 図 1 刺激手順

舌刺激を 10 秒行い，20 秒後に蒸留水による洗浄を 10 秒行った。洗浄から次の刺激までは 1 分間以上空け，その間も洗浄を行った。

### 図 2 実験の模式図

溶液の舌刺激による神経応答を，ワイヤー電極にて記録した。

### 図 3 機械的刺激，100mM NaCl，冷水による舌神経，鼓索神経の応答記録例

舌神経は，機械的刺激による応答が認められたが NaCl 応答は確認されなかった。鼓索神経は機械的刺激に対して応答が認められないが，NaCl で応答が認められた。冷水刺激は，舌神経・鼓索神経ともに応答が認められた。

### 図 4 タンニン酸 30mM，アンモニウムミョウバン 30mM による舌神経・鼓索神経応答記録例

舌神経・鼓索神経ともにタンニン酸，アンモニウムミョウバンで応答が確認された。

### 図 5 冷水と各濃度のタンニン酸，アンモニウムミョウバンによる舌神経・鼓索神経応答記録例

舌神経・鼓索神経ともに冷水刺激による応答が確認された。タンニン酸，アンモニウムミョウバンともに濃度依存性の応答を示した。

### 図 6 タンニン酸，アンモニウムミョウバン刺激による応答が認められなかった舌神経記録例

ピンセットによる機械的刺激では応答したが，冷水，タンニン酸，アンモニウムミョウバ

ンでは応答しなかった神経が確認された(神経 24 本中 4 本, 約 18.2%)。

▲ : 刺激開始 ▼ : 刺激終了

図 7 タンニン酸, アンモニウムミョウバンの相対的積分応答値 (冷水の応答 : 100)

相対応答値の平均値±SD を示す。タンニン酸, アンモニウムミョウバンともに, それぞれの神経で濃度が上昇するにつれて応答積分値も大きくなっていることが確認された。鼓索神経タンニン酸で直線の傾きが最も大きかった (舌神経タンニン酸 : 18.209, 舌神経アンモニウムミョウバン : 13.14, 鼓索神経タンニン酸 : 31.588, 鼓索神経アンモニウムミョウバン : 16.518)。

閾値は舌神経タンニン酸:0.15mM, 舌神経アンモニウムミョウバン:0.12mM, 鼓索神経タンニン酸:0.13mM, 鼓索神経アンモニウムミョウバン:0.04mM であった。