

カエル舌咽神経の相動性味覚応答に關与する複數受容部位 ：交叉順応法による研究

横瀬 隆夫, 奥田・赤羽 和久, 深見 秀之, 松本 範雄

岩手医科大学歯学部口腔生理学講座

(主任：北田 泰之 教授)

(受付：2006年11月2日)

(受理：2006年11月21日)

Abstract : The frog glossopharyngeal nerve elicits phasic responses to various taste stimuli applied to the tongue after a rinse of 1 mM NaCl. The difference in the receptor sites for various taste stimuli eliciting phasic responses in the frog glossopharyngeal nerve was investigated by using a cross-adaptation method. Cross-adaptation experiments were carried out as follows. First, one stimulus was applied to the tongue and was followed by another stimulus after the response to the first stimulus had declined. The cross-adaptation experiments were carried out between pairs of four basic taste substances, four bitter substances and three chloride-salts. The results obtained suggest that four basic taste substances (quinine-HCl, NaCl, saccharin and acetic acid) stimulate different receptor sites. The response to one of the bitter substances (quinine-HCl, denatonium, caffeine and theophylline) applied secondarily was decreased by another bitter substance applied first, but reduction in the response to the second stimulus depended on the types of bitter substances applied first. This was also true in cross-adaptation experiments between pairs of three salts (NaCl, KCl and NH₄Cl). However, quinine-HCl and salts did not share a receptor mechanism with each other. The present results suggest that there are different receptor sites responsible for phasic responses to various taste substances and that some receptors interact with other receptors. The sites responsible for adaptation to taste stimulation are discussed.

Key words : taste, receptors, cross-adaptation, glossopharyngeal nerve, frog

緒 言

感覚受容器に同一強度の刺激が持続的に与えられると、その感覚受容器の興奮が減弱して行くことを順応という。味覚刺激に対する味覚の一次ニューロンの応答にも順応が見られる。味覚神経の応答は刺激直後にインパルス頻度が高

いが、味覚受容器の順応により、インパルス頻度は低くなる。しかし、その後一定のインパルス頻度が続く¹⁾。このような刺激直後の一過性の応答を相動性応答、その後続く持続的な応答を緊張性応答という。相動性応答において順応を起こす部位は、味覚受容体、味細胞、味覚神経線維末端（味細胞とシナプス形成）が考

Multiple receptor sites responsible for the transient taste responses in the frog glossopharyngeal nerve revealed by cross-adaptation method

Takao YOKOSE, Kazuhisa OKUDA-AKABANE, Hideyuki FUKAMI, Norio MATSUMOTO

Department of Oral Physiology, School of Dentistry, Iwate Medical University (Chief: Prof. Yasuyuki KITADA)

1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

られるが、明らかになっていない。種々味覚物質が相動性応答を起こすが、これらの味覚物質が同じ受容部位に作用するかどうか、順応現象を利用し調べる方法がある。ある味覚刺激 A の相動性応答（コントロール応答）を記録しておき、次に別の種類の味覚刺激 B で順応を起こした直後に、A の味覚刺激を行い、その応答の大きさがコントロール応答と同じ大きさであれば A と B は全く異なる受容部位に作用したことになる。この方法を交叉順応法という。このような交叉順応法はラットの相動性応答で塩味物質間の類似あるいは違いを知る方法として使われた²⁾。また、魚類の味覚神経の応答³⁾や、コイの嗅球応答⁴⁾は相動性応答を示すので交叉順応法による解析がなされてきた。

カエル舌の大半は舌咽神経によって支配されている。カエル舌を種々の味覚物質で刺激すると舌咽神経から相動性応答とそれに続く緊張性応答が記録される^{5, 6)}。しかし、代表的な苦味物質の塩酸-キニーネ (quinine-HCl, Q) や、他の苦味物質 (caffeine, Caff; theophylline, Theo; denatonium, Den) の刺激は相動性応答を引き起こすが緊張性応答はほとんど見られない⁷⁾。また、カエルではリンス液 (順応液) の NaCl の濃度を薄くすると、NaCl, KCl などの塩刺激液による相動性応答が記録される⁵⁾。甘味刺激 (saccharin-Na, Sac)⁸⁾ や酸味刺激 (acetic acid, HAc)⁹⁾ も相動性応答を生起する。このように、カエル舌咽神経は種々の味覚刺激により相動性応答を引き起こす。

Hanamori ら¹⁰⁾はカエル舌咽神経の単一神経線維の応答特性を調べ、Q に応答する神経線維は NaCl にも HAc にも相動性応答を示すことを報告している。これらの味覚刺激において、もし順応を起こす部位が神経線維末端で起こるのであれば、先行の味刺激で順応が起こるので、二番目に与えた別の味刺激の味覚応答は現われないはずである。単一神経線維は幾つもの味細胞とシナプスを形成する。一つの味細胞の受容膜で異なる味物質を受容し、順応が味細胞で起こる場合も交叉順応後の応答は現われな

い。それぞれの味物質を受容する異なる味細胞が存在するか、あるいはそれぞれの受容体が独立して順応を起こす場合は二番目の別の刺激に対する応答は先行刺激の影響を受けない。しかし、類似した味物質間で受容機構が共通していれば、交叉順応後の応答に変化が現われるものと思われる。

本研究は交叉順応法を用いることによって、カエルの舌咽神経の相動性応答を起こす種々の味物質の受容過程に複数の受容部位 (受容体あるいは受容機構) が関与するかどうか、また味覚刺激で順応を起こす部位はどこかを明らかにすることを目的とする。

方 法

実験にはウシガエル (*Rana catesbeiana*, 200–400 g) を用いた。動物の両側リンパ嚢に 25% ウレタン (3 g/kg body wt.) を投与し麻酔した。麻酔後、動物を仰臥位にし、口腔から舌を引き出し、舌をチャンバー内のソフトプレート上にピンで固定した。一側の舌咽神経束を周囲組織から露出させ、舌骨上部で切断した。舌咽神経束の中樞端を記録用銀電極に載せた。舌の一部を銀板に接触させ、銀板を不関電極とした。神経の乾燥を防ぐため電極上の神経周囲をワセリンと流動パラフィンの混合物で覆った。神経インパルスは AC 増幅器で増幅させ、ペンレコーダーにより積分応答 (時定数=0.5sec) として記録した。

実験は室温 (20–25°C) で行った。舌表面に与えるリンス液および味覚刺激液の流速は約 0.5 ml/sec とした。カエル舌咽神経は舌に与えた蒸留水にも応答し (水応答)^{11–13)}、水応答は薄い NaCl 溶液により抑制されるので 1 mM NaCl をリンス液として用いた。味覚刺激液には 0.001–2.0 mM Q (Quinine-HCl, Sigma), 0.1–20 mM Caff (Caffeine, Wako Pure Chemical), 0.1–20 mM Theo (Theophylline, Wako Pure Chemical), 0.001–5.0 mM Den (Denatonium benzoate, Sigma), 1–100 mM NaCl (Wako Pure Chemical), 1–100

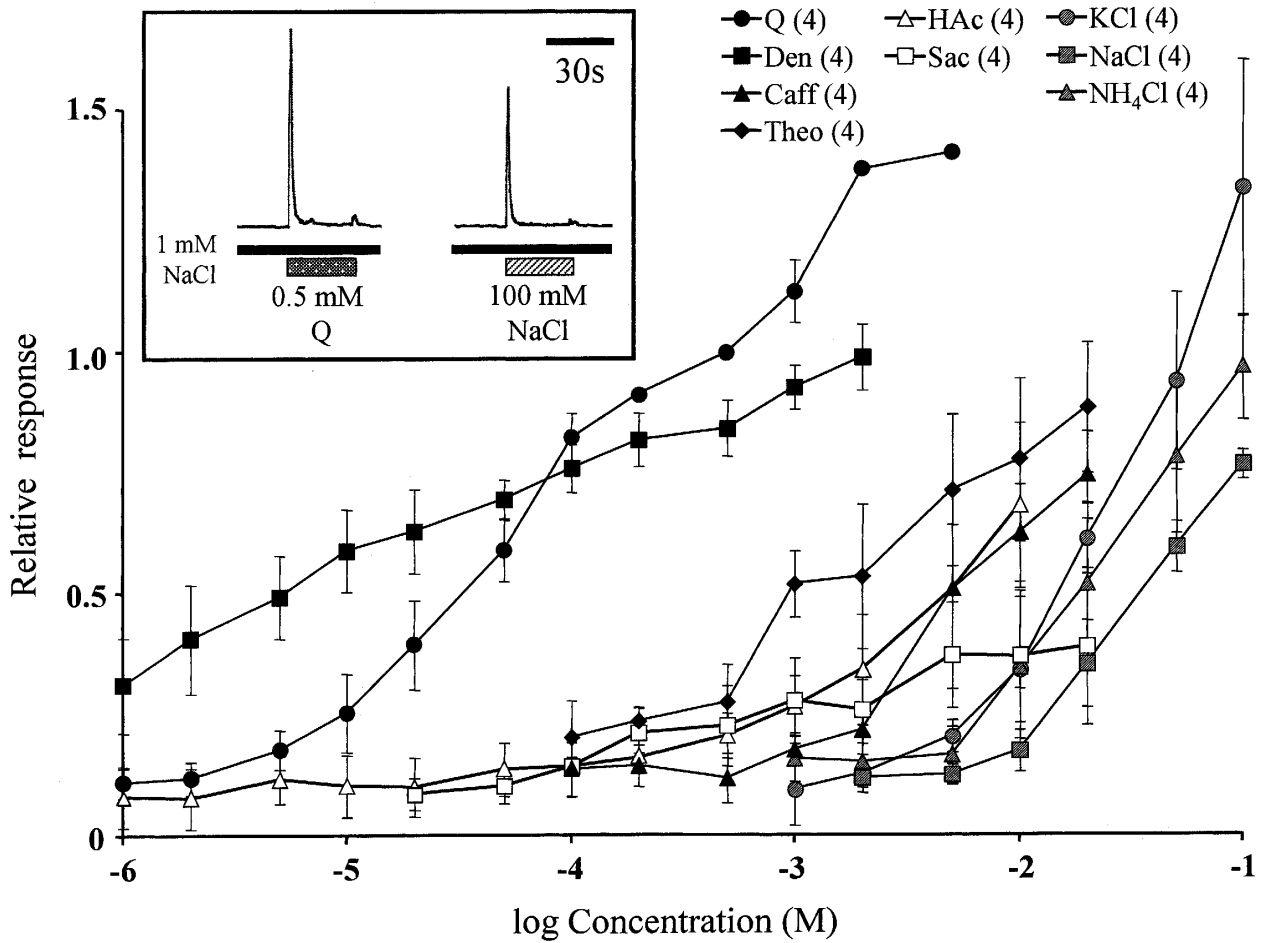


Fig. 1. Concentration-response curves for various taste substances eliciting phasic responses in the frog glossopharyngeal nerve. The inset shows integrated responses to 0.5 mM quinine-HCl (Q) and 100 mM NaCl. The tongue surface was rinsed with 1 mM NaCl. Responses plotted were calculated relative to the response to 0.5 mM quinine-HCl. Den: denatonium. Caff: caffeine. Theo: theophylline. HAc: acetic acid. Sac: saccharin-Na. Numerals in parentheses indicate the number of preparations on which the average response magnitude is based. Points and bars represent mean \pm SEM.

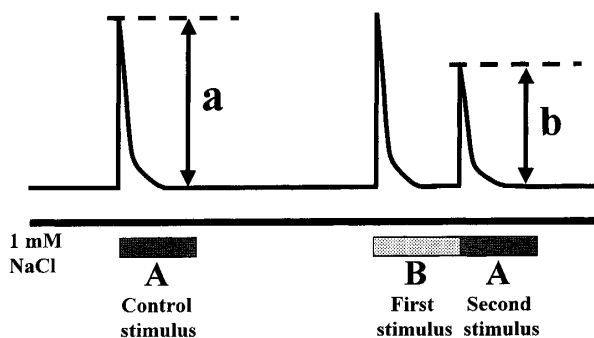


Fig. 2. Cross-adaptation method. Control response to A is recorded and then B (first stimulus) is applied to the tongue surface and is followed by A (second stimulus) after the response to B has declined. The magnitude of the response to A (second stimulus) is calculated relative to that of the control stimulus.

$$\text{Relative response} = \frac{b}{a}$$

mM KCl (Kanto Chemical) および 1–100 mM NH₄Cl (Kanto Chemical), 0.01–20 mM Sac (Saccharin Na, Wako Pure Chemical), 0.01–10 mM HAc (Acetic acid, Wako Pure Chemical) を用い、30秒間舌表面に流した。これらの味覚物質に対する相動性応答は刺激後数秒以内で順応した。相動性応答の大きさはベースラインからの高さとし、用いた味覚物質の用量・応答曲線は0.5 mM Q の応答の大きさに対する相対値で表した (Fig. 1)。交叉順応法は次のように行った (Fig. 2)。味覚刺激 A に対するベースラインからの応答のピーク値の高さ a をコントロール応答として測定した。次いで 1 mM NaCl で 5 分間リンス後、味覚刺激 B で 30 秒間順応させ、その直後に味覚刺激 A で刺激した時の相動性応答の大きさを b とした。味覚刺激液 B に順応後の味覚刺激 A の変化を順応後相対応答値 (b/a) で表した。この順応後相対応答値が 1.0 であれば、味覚刺激 A の応答は味覚刺激 B の影響を受けなかったといえる。もし、順応後相対応答値が 0 であれば、味覚刺激 A の応答は味覚刺激 B の影響を強く受けたことになる。

交叉順応実験に使用した濃度は以下の通りである。四基本味物質間の交叉順応実験において甘味物質の sucrose はカエル舌咽神経の応答は小さいことと、sucrose 刺激は持続性応答を生起するので、交叉順応実験を行うことはできない。そこで相動性応答を生起させる人工甘味物質の Sac を使った。Q は 0.5 mM で安定した大きな相動性応答が得られるので 0.5 mM を使用した。NaCl は 200 mM を超えると相動性応答に続いて持続性応答が現われるので 100 mM を使用した。また、Sac は 5 mM で飽和したが、0.5 mM Q に対する相対応答値は 0.5 以下と小さかったので (Fig. 1), 20 mM を用いた。また、HAc は大きな応答の得られる 10 mM と 0.5 mM Q に対する相対応答値は 0.5 以下の応答を示す 1 mM の 2 つの濃度で交叉実験を行った。10 mM HAc の酸刺激が強く、受容部位にとどまらず受容膜全体に及ぶことが考えられる

からである。苦味物質間の交叉順応実験には 0.5 mM Q とほぼ同じように大きい応答を生起する 2 mM Den を用いた。また Caff および Theo は用いた濃度で 0.5 mM Q の応答の大きさに達しなかったが、あまり高い濃度は避け、10 mM Caff および 5 mM Theo を使用した。塩化物間の交叉順応実験では 100 mM NaCl, 100 mM KCl および 50 mM NH₄Cl を使用した。これらの濃度は相動性応答のみを生じ、これらの濃度より高い濃度の刺激では相動性応答に続き緊張性応答が現われるからである。

交叉順応実験では刺激液を与える前は 1 mM NaCl で順応させるので、100 mM NaCl 刺激以外の刺激液には 1 mM NaCl を加えた。ただし、Sac は 20 mM Na を含むので、Sac の交叉順応実験では 20 mM NaCl を加えた刺激液を用いた。

交叉順応実験においてコントロールと交叉順応後での相対応答値間の差の有意性は Student の対応のある *t*-検定により行った。危険率 0.05% をもって有意差ありと判定した。

結 果

Fig. 1 の挿入図は 1 mM NaCl に順応後、0.5 mM Q および 100 mM NaCl の相動性応答の積分応答を示す。両応答とも一過性に応答が生起し、直ぐに順応が起こって応答レベルはベースラインに戻った。このような相動性応答を生起する各種刺激の用量・応答曲線を Fig. 1 に示す。相動性応答の大きさは 0.5 mM Q に対する相対応答値として算出した。苦味物質の Q および Den は 0.001 mM 以下から応答が現われ始め Q は 5 mM で応答の大きさはほぼ飽和した。しかし、Caff および Theo は Q および Den より高濃度領域で応答が現われた。さらに、塩化物は Caff および Theo よりも高い濃度の 1 mM を超えてから現われた。Sac および HAc は塩化物より低濃度で興奮効果が見られたが、曲線の傾斜は緩やかであった。

Fig. 3 A は 0.5 mM Q 応答が 5–50 mM 濃度の NaCl 順応後にどのように変化するかを示

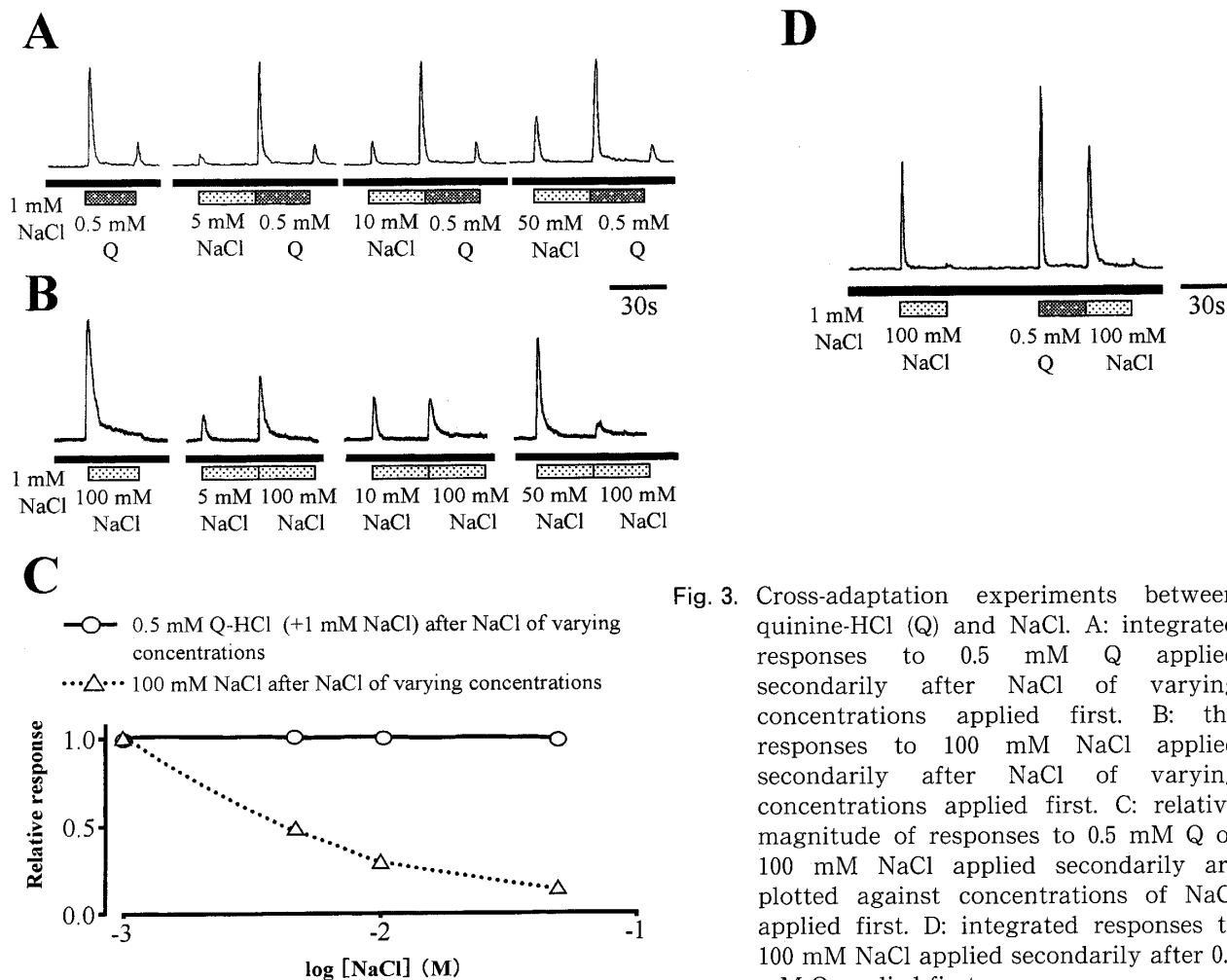


Fig. 3. Cross-adaptation experiments between quinine-HCl (Q) and NaCl. A: integrated responses to 0.5 mM Q applied secondarily after NaCl of varying concentrations applied first. B: the responses to 100 mM NaCl applied secondarily after NaCl of varying concentrations applied first. C: relative magnitude of responses to 0.5 mM Q or 100 mM NaCl applied secondarily are plotted against concentrations of NaCl applied first. D: integrated responses to 100 mM NaCl applied secondarily after 0.5 mM Q applied first.

す。NaClの濃度が高くなると、NaClの相動性応答の大きさが増加した。NaCl順応後に直ぐに0.5 mM Q刺激を行ったが0.5 mM Qに対する相動性応答の大きさはコントロールの0.5 mM Qに対する相動性応答とほとんど変わらなかった。一方、100 mM NaClをコントロール刺激として、NaCl順応後100 mM NaCl相動性応答の大きさを調べると順応前のNaClの濃度が高くなるにつれ順応後の応答は減少した (Fig. 3 B)。そこで、Fig. 3 A および B の記録例において、Fig. 2 で示すように交叉順応後の相対応答値を計算した。交叉順応後の相対応答値と順応前に与えたNaClの濃度との関係をFig. 3 Cに示す。このグラフから、NaCl順応後に0.5 mM Q応答は影響されず、同じ味物質のNaCl刺激に対する応答は著しく減少した。Fig. 3 Dには逆に0.5 mM Q刺激で応答が順応

した後に100 mM NaClを与えた。100 mM NaClの相動性応答の大きさはコントロールの100 mM NaClに対する相動性応答とほとんど変わらなかった。このようにNaClとQはどちらを先に刺激しても先行刺激による影響は見られなかった。これらの結果から Fig. 3での標本においてはNaClとQは全く異なる受容部位に作用すると結論することができる。

1) 四基本味物質

Q (苦味), NaCl (塩味), Sac (甘味) および HAc (酸味) の濃度をそれぞれ0.5 mM, 100 mM, 20 mM, 1 mM (あるいは10 mM) に固定し、四基本味物質間の交叉順応実験を行った (Table 1)。Table 1に交叉順応後の相対応答値を示す。相対応答値はコントロールに対し、有意差のある値が多いが、相対応答値は1.0に近

Table 1. Cross-adaptation experiments between pairs of four basic substances. Taste substances listed in the most left column were applied first, and taste substances listed in the top line were applied secondarily. The magnitude of control response is taken as 1.0 and the magnitude of the response to taste substances applied secondarily is calculated relative to the control response.

		Second stimulus			
		Q	NaCl	Sac	HAc ¹⁾
First stimulus	Q	—	1.12 ± 0.02**	0.84 ± 0.18	0.88 ± 0.02*
	NaCl	0.87 ± 0.01**	—	0.64 ± 0.09*	0.84 ± 0.11
	Sac	0.95 ± 0.04*	1.22 ± 0.19*	—	0.84 ± 0.08
	HAc ¹⁾	0.84 ± 0.01**	1.37 ± 0.12	1.47 ± 0.30	—
	HAc ²⁾	0.11 ± 0.02**	0.11 ± 0.03**	0.15 ± 0.04**	—

Q: 0.5m M Quinine-HCl, Sac: 20 mM Saccharin-Na, NaCl: 100 mM NaCl, HAc¹⁾: 1 mM Acetic acid, HAc²⁾: 10 mM Acetic acid. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control. Mean ± SE ($n = 4$).

Table 2. Cross-adaptation experiments between pairs of four bitter substances. Taste substances listed in the most left column were applied first, and taste substances listed in the top line were applied secondarily. The magnitude of control response is taken as 1.0 and the magnitude of the response to taste substances applied secondarily is calculated relative to the control response.

		Second stimulus			
		Q	Den	Caff	Theo
First stimulus	Q	—	0.71 ± 0.05**	0.19 ± 0.07**	0.64 ± 0.04**
	Den	0.33 ± 0.09**	—	0.01 ± 0.01**	0.36 ± 0.07**
	Caff	0.43 ± 0.03**	0.39 ± 0.04**	—	0.46 ± 0.05**
	Theo	0.87 ± 0.02**	0.82 ± 0.04**	0.01 ± 0.01**	—

Q: 0.5 mM Quinine-HCl, Den: 2 mM Denatonium, Caff: 10 mM Caffeine, Theo: 5 mM Theophylline. ** $P < 0.01$ compared with control. Mean ± SE ($n = 4$).

Table 3. Cross-adaptation experiments between pairs of three salts substances. Taste substances listed in the most left column were applied first, and taste substances listed in the top line were applied secondarily. The magnitude of control response is taken as 1.0 and the magnitude of the response to taste substances applied secondarily is calculated relative to the control response.

		Second stimulus			
		NaCl	KCl	NH ₄ Cl	Q
First stimulus	NaCl	—	0.61 ± 0.07**	0.45 ± 0.05**	0.87 ± 0.01**
	KCl	0.15 ± 0.05**	—	0.18 ± 0.06**	0.83 ± 0.03**
	NH ₄ Cl	0.13 ± 0.04**	0.19 ± 0.03**	—	0.81 ± 0.03**
	Q	1.12 ± 0.02**	1.29 ± 0.15	1.36 ± 0.16	—

NaCl: 100 mM NaCl, KCl: 100 mM KCl, NH₄Cl: 50 mM NH₄Cl, Q: 0.5 mM Quinine-HCl. ** $P < 0.01$ compared with control. Mean ± SE ($n = 4$).

いので、四基本味物質の中、NaCl、QおよびSac間の交叉順応実験の結果はこれらの味物質がそれぞれ異なる受容部位に作用することを示した。しかし、HAcはHAcの濃度により異なる結果となった。即ち、1 mM HAcが一番目の刺激とし与えられたときには他のNaCl、QおよびSacの相動性応答に影響を与えなかったが、10 mM HAcが一番目の刺激の時はNaCl、QおよびSacの相動性応答は約90%程度減少

した。この結果は10 mM HAcのpHが3.5であり酸性が強かったので受容部位に特異的というよりも非特異的に受容膜全体に影響を与えたものと思われる。1 mM HAc (pH 4.0)はNaCl、QおよびSacの順応後に二番目の刺激として与えてもあまり影響を受けていないのでHAcは他の基本味物質とは異なる受容部位を持つといえる。従って、四基本味物質間の交叉順応実験の結果からこれらの味物質がそれぞれ異なる

受容部位に作用することが推察された。

Q が一番目の刺激の時に NaCl 応答は有意に増強され, NaCl が一番目の刺激の時に Q 応答は有意に減少したがどちらもそれぞれの順応後の相対応答値は1.0に近かったので, Q 受容と NaCl 受容間にはあまり共通性がないと思われる。

2) 苦味物質

Q と他の苦味物質の交叉順応実験を試みた (Table 2)。0.5 mM Q, 2 mM Den, 10 mM Caff および 5 mM Theo が使われた。Table 2 で示すように, 苦味物質間の交叉順応はどの苦味物質が先行刺激になっても順応後の苦味物質に対する応答は減少した。また, 苦味物質間で順応の影響の程度は異なった。2つの苦味物質の一番目の刺激と二番目の刺激の順序を変えると交叉順応後相対応答値は異なった。例えば, Q が一番目の刺激で, Den が二番目の刺激の時には Den の相動性応答は約30%の減少であり, かなりの独立性が見られた。刺激を逆にすると, Den 刺激順応により, Q の相動性応答は約70%も減少した。また, Q と Caff 間の交叉順応実験は Q と Caff がかなり共通の受容機構を持つことを推察させた。しかし, Q と Theo の受容部体はかなり独立していることを思わせる。Caff はどの苦味物質が先行しても交叉順応後の相対応答値は小さな値であった。しかし, Caff の先行刺激は二番目に与えた苦味物質の応答を50-60%も減少させた。

3) 塩化物間

NaCl, KCl および NH₄Cl 間の交叉順応実験ではどの組み合わせでも順応の影響があった (Table 3)。しかし, どの塩が一番目の刺激になるかによって順応後の応答は大きく変わった。例えば, NaCl が一番目の刺激で, KCl が二番目の刺激の時には KCl の相動性応答は約40%の減少であったが, 刺激の順を逆にすると, KCl の順応により, NaCl の相動性応答は85%も減少した。NaCl と NH₄Cl による関係は

NaCl と KCl の関係に類似していた。NH₄Cl 刺激後の順応は NaCl および KCl の相動性応答を大きく減少させた。NH₄Cl と KCl はどちらが一番目の刺激でもお互い強く影響し合った。NH₄Cl 受容と KCl 受容はかなり共通性があるものと思われる。これらの結果は NaCl が NH₄Cl および KCl と一部の受容機構は共通であるが, かなりの部分は異なる受容機構を持つものと思われる。Q による順応は NaCl ばかりでなく, KCl や NH₄Cl の相動性応答にそれほど影響を与えなかった。従って, Q 受容は NaCl, KCl および NH₄Cl などの塩化物受容とは独立しているものと思われる。

考 察

味物質は味細胞の先端受容膜に作用する。甘味物質や苦味物質は先端受容膜において, これらの物質と結合するそれぞれ異なる受容体が先端受容膜に存在すると考えられている¹⁴⁾。甘味物質や苦味物質の受容体は G タンパク質と共役するとされている。即ち, 細胞内セカンドメッセンジャーを介し, 細胞内の Ca²⁺ が上昇し, シナプス伝達により味覚神経線維末端に活動電位を発生させる。一方, 塩味物質の Na⁺ や酸味物質の H⁺ は先端受容膜に存在するイオンチャンネルを通る可能性があり, 味細胞に脱分極を起こさせ, 電位依存性 Ca²⁺ チャンネルを開き, 細胞外の Ca²⁺ を流入させることによりシナプス伝達を起こすことが推察されている¹⁴⁾。しかし, 塩味物質の Na⁺ は上皮性 Na⁺ チャンネルブロッカーの amiloride によって抑制されない NaCl 味覚応答が見出されており^{6), 15-17)}, 必ずしも, Na⁺ が受容膜のチャンネルを通ることだけで Na⁺ 味覚受容機構が説明されているわけではない。また, 酸味物質の H⁺ は先端受容膜のそれぞれの受容体に結合する証拠¹⁸⁾や説^{19), 20)}もあり, 味覚刺激の情報変換機構はまだ確立されていない。また, 同じ味物質でも動物が違えば異なる受容機構が考えられ, 味覚受容機構の研究はまだ解明されなければならない多くの課題を残している。

本研究はカエル舌咽神経の種々味物質によって引き起こされる相動性応答の順応現象を利用し、味物質が異なると、その受容部位あるいは受容機構が異なるかどうかを調べたものである。このような交叉順応法は複数受容部位の存在を明らかにするのによい方法である。先ず、四基本味についてはそれぞれの味物質でほぼ独立して受容されることが明らかになった。記録しているところは神経線維レベルであるので、受容膜から神経線維に至るまで四基本味の味覚受容は相互の干渉なしに受容されることを意味する。緒言の項で述べたように、Qに回答する単一神経線維はNaClやHAcにも回答するので¹⁰⁾、順応を起こす部位は神経線維末端ではないと結論される。カエルの味細胞の細胞内電位記録において、単一味細胞が四基本味刺激で脱分極性の受容器電位を発生させることが報告されている²¹⁾。従って、四基本味のそれぞれに特異的に回答する味細胞が存在すると考えるのは難しい。おそらく、一つの味細胞が四基本味物質のそれぞれに特異的な受容体を持つものと思われる。順応が味細胞で起こるとすると、四基本味のある味物質を先行刺激とし順応を起こさせた後に他の味物質を与えると回答はほとんど現れないことになるが、実際には二番目の刺激で起こる応答は先行刺激の影響を受けなかった。そこで、順応を起こす部位は受容体にあることが推察される。

苦味物質間の交叉順応実験から、苦味物質にはかなり共通な受容体あるいは受容機構があることが推察される (Table 2)。Qが一番目の刺激でDenが二番目の刺激であるとDen回答は29%しか減少しなかったが、Denを一番目の刺激にし、Qを二番目の刺激にするとQ回答は67%も減少した。このようにQとDenのどちらが先行刺激になるかで、交叉順応後の相対応答値が異なった。QとDenの用量・応答曲線 (Fig. 1) は類似しているので先行刺激による順応の違いをQとDenの受容体に対する親和性の違いで説明できない。おそらく、Denの受容体とQの受容体はある程度独立しているが、

またある程度共通の過程を持ち相互に影響し合っていることが考えられる。その場合、一方の受容体の順応による他方の受容体への影響の仕方は同じでなく、違いがみられるのであろう。DenがQの受容体に antagonist として作用し、受容体から離れにくいことも考えられる。CaffとTheoは構造が似ており、応答の現われる濃度領域はほぼ同じであった (Fig. 1)。しかし、QとCaffは構造がかなり異なるが、QとCaff間の交叉順応実験の結果は、QとCaffはかなり受容体が共通していることを示した。また、QとTheo間の交叉順応実験の結果はQとTheoは受容体の共通性は少ないことを示した。CaffとTheoは構造が類似していても、僅かな違いを受容体は識別しているものと思われる。Caffの応答は他の苦味物質が先行刺激になると著しく減少した。しかし、Caffが先行刺激になると他の苦味物質の応答は50-60%も減少するので、Caffが受容体に結合する親和性が特別に低いわけではない。

塩化物について (Table 3), NaClが一番目の刺激でKClやNH₄Clが二番目の刺激であるとき、KCl回答やNH₄Cl回答は約50%減少した。また、その逆にKClやNH₄Clが先行刺激の時NaCl回答は約85%も減少した。KClとNH₄Cl間ではどちらが先行してもKCl回答やNH₄Cl回答はそれぞれ約80%も減少した。このことはKCl先行刺激がNaCl回答およびNH₄Cl回答に、NH₄Cl先行刺激はNaCl回答およびKCl回答に著しく影響を与えることを示している。しかし、KClやNH₄Cl先行刺激後のQ回答の減少はNaCl先行刺激後のQ回答の減少と同じく僅か約20%程度であった。このことはKClやNH₄Cl順応後のNaCl回答の減少はKClやNH₄Clが受容膜に非特異的に作用したのではないことを示す。また、NaCl, KClおよびNH₄ClにはCl⁻が共通なので、これらの塩化物間での交叉順応実験で得られた結果は陽イオンの違いによる。また、本研究でKClとNH₄Clは交叉順応実験において同じような効果を持つことが示された。おそらく、

KCl と NH_4Cl はかなり共通した受容機構を持つものと思われる。このように、本実験は NaCl の受容機構が KCl および NH_4Cl のそれとは違うこと、KCl および NH_4Cl は類似の受容機構を持つことを示した。これらの知見は陽イオン種による違いに起因するものであり、同様な知見がラットの鼓索神経の塩刺激に対する相動性応答における交叉順応実験結果で報告されている²⁾。このようなことから、カエルとラットの塩応答には共通性が見られた。以上の結果をまとめると、本研究における交叉順応実験結果は四基本味物質間には受容部位の共通性はなく、苦味物質間、塩化物間ではかなりの共通性が見られることを示した。

味細胞レベルで受容体あるいは受容機構が異なっても、単一味覚神経線維がどのような味覚情報を中枢へ送るかを知ることは重要である。ハムスター²²⁾およびカニクイザル²³⁾において四基本味物質のそれぞれに特異的に応答する単一味覚神経線維が見出されている。即ち、Q に特に応答する Q ベスト線維、ショ糖に特に応答するショ糖ベスト線維、NaCl に特に応答する食塩ベスト線維および酸に特に応答する酸ベスト線維がある。それぞれのベスト線維はそれぞれの四基本味情報を中枢に伝えるとする考えをラベルドライン (labeled-line) 説²⁴⁾という。味覚情報を中枢に伝える単一神経線維の役割において、カエルは哺乳類とは著しく異なっている。ウシガエルの舌咽神経の Q によく応答する単一神経線維は NaCl および HAc にも応答する特徴がある¹⁰⁾。このことはこの単一神経線維においては Q、NaCl および HAc、それぞれの味質の情報を中枢に送ることができないことを意味する。

カエル舌咽神経には味覚刺激に応答する少なくとも二種類の神経線維が存在する。一つは Q に特に応答し相動性応答を示す Q 線維であり、もう一つは非常に低濃度の Ca^{2+} (閾濃度は 0.01 mM 以下で、1 mM 以上で応答は飽和) に特に応答する Ca^{2+} 線維^{13, 25)}がある。 Ca^{2+} 線維は緊張性応答を示し、順応は非常に遅い。Q は Ca^{2+}

線維を興奮させないし、 Ca^{2+} は Q 線維を興奮させない¹⁰⁾。このようにカエル舌咽神経には機能的に異なる少なくとも二種類の味覚神経線維がある。 Ca^{2+} 線維の役割はよく分かっていないが、Q 線維で代表される相動性応答を示す神経線維の役割について次に考察する。

カエルの舌筋は舌下神経に支配されている。カエルの舌を Q で刺激すると反射的に舌下神経が興奮する²⁶⁻²⁸⁾。しかし、 Ca^{2+} で舌を刺激しても舌下神経には興奮が見られない^{27, 28)}。動物の生存にとって体に有用な味物質と害になる味物質を区別することは重要である。苦味物質はラットなど動物にとって忌避される物質として知られている^{29, 30)}。また、両棲類の mudpuppy は Q を含ませたゼラチンのペレットを口に含んだ後に吐き出す摂食行動をとる³¹⁾。従って、Q の味覚刺激によりカエルの舌下神経に興奮が起こったことは忌避反応と捉えることができる。本研究は相動性応答に複数の受容部位 (あるいは受容機構) が関与することを示した。複数受容部位の存在の意味を次のように考える。ある忌避物質で順応が起こり、続いて刺激される他の忌避物質に応答が現われないようでは忌避の目的を達するのに十分ではない。先行刺激で味覚応答が順応しても、異なった刺激を与えれば直ちに応答が起こり、忌避行動がとれることが重要である。

カエル味覚神経の役割は哺乳動物のそれとはかなり異なることが本研究の結果から分かった。しかしながら、種々味物質を区別する異なる受容体 (あるいは受容機構) の研究はカエルでも、哺乳動物でも、味覚受容機構を探る上で重要である。また、カエル味覚神経は典型的な相動性応答を生起するので、味覚刺激に対する順応のメカニズムを調べるのにカエル味細胞の味覚受容の研究は有益であると思われる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、非常に温かい御指導と御鞭撻を賜りました北田泰之教授に心から謝意を表します。また、多くの御示唆、御支援を賜

りました口腔生理学講座の先生方各位に深く感謝申し上げます。

この研究は一部、文部科学省ハイテクリサーチプロジェクト（平成17年度～平成21年度）の補助を受け実施した。

文 献

- 1) Pfaffmann, C.: Gustatory afferent impulses. *J. Cell. Comp. Physiol.* 17 : 243-258, 1941.
- 2) Smith, D. V., and Frank, M.: Cross adaptation between salts in the chorda tympani nerve of the rat. *Physiol. Behav.* 8 : 213-220, 1972.
- 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) Ohno, T., Yoshii, K., and Kurihara, K.: Multiple receptor types for amino acids in the carp olfactory cells revealed by quantitative cross-adaptation method. *Brain Res.* 310 : 13-21, 1984.
- 5) Kashiwagura, T., Kamo, N., Kurihara, K., and Kobatake, Y.: Phasic and tonic components of gustatory response in the frog. *Am. J. Physiol.* 231 : 1097-1104, 1976.
- 6) Kitada, Y., Okuda-Akabane, K., and Mitoh, Y.: Effects of amiloride on gustatory neural responses to salts in the frog. *Chem. Senses* 26 : 1203-1210, 2001.
- 7) Kumazawa, T., Kashiwayanagi, M., and Kurihara, K.: Contribution of electrostatic and hydrophobic interactions of bitter substances with taste receptor membranes to generation of receptor potentials. *Biochim. Biophys. Acta* 888 : 62-69, 1986.
- 8) Okada, Y., Fujiyama, R., Miyamoto, T., and Sato, T.: Saccharin activates cation conductance via inositol 1,4,5-trisphosphate production in a subset of isolated rod taste cells in the frog. *Eur. J. Neurosci.* 13 : 308-314, 2001.
- 9) Nagahama, S., and Kurihara, K.: Enhancement of taste responses to acids by calcium ions. *Comp. Biochem. Physiol.* 77 : 63-66, 1984.
- 10) Hanamori, T., Hirota, K., and Ishiko, N.: Receptive fields and gustatory responsiveness of frog glossopharyngeal nerve. A single fiber analysis. *J. Gen. Physiol.* 95 : 1159-1182, 1990.
- 11) Zotterman, Y.: The response of the frog's taste fibers to the application of pure water. *Acta. Physiol. Scand.* 18 : 181-189, 1949.
- 12) Nomura, H., and Sakada, S.: On the "water response" of frog's tongue. *Jpn. J. Physiol.* 15 : 433-443, 1965.
- 13) Kitada, Y.: Inhibitory effects of cations on the Ca^{2+} response of water fibers in the frog tongue. *Jpn. J. Physiol.* 28 : 413-422, 1978.
- 14) Lindemann, B.: Taste reception. *Physiol. Rev.* 76 : 719-766, 1996.
- 15) Kitada, Y., Mitoh, Y., and Hill, D.L.: Salt taste responses of the IXth nerve in Sprague-Dawley rats: lack of sensitivity to amiloride. *Physiol. Behav.* 63 : 945-949, 1998.
- 16) Ninomiya, Y., Fukami, Y., Yamazaki, K., and Beauchamp, G. K.: Amiloride inhibition of chorda tympani responses to NaCl and its temperature dependency in mice. *Brain. Res.* 708 : 153-158, 1996.
- 17) Nakamura, M., and Kurihara, K.: Non-specific inhibition by amiloride of canine chorda tympani nerve responses to various salts: do Na^{+} -specific channels exist in canine taste receptor membranes? *Brain. Res.* 524 : 42-48, 1990.
- 18) Ugawa, S., Minami, Y., Guo, W., Saishin, Y., Takatsuji, K., Yamamoto, T., Tohyama M., and Shimada, S.: Receptor that leaves a sour taste in the mouth. *Nature* 395 : 555-556, 1998.
- 19) Bobkov, Yu. V., Grishin, A. A., Rogachevskaya, O. A., and Kolesnikov, S. S.: Proton-activated K^{+} channels of frog taste receptor cells. *Biophysics* 44 : 843-852, 1999.
- 20) Kinnamon, S.C., Dionne, V. E., and Beam, K. G.: Apical localization of K^{+} channels in taste cells provides the basis for sour taste transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 : 7023-7027, 1988.
- 21) Sato, T.: Multiple sensitivity of single taste cells of the frog tongue to four basic taste stimuli. *J. Cell. Physiol.* 80 : 207-218, 1972.
- 22) Ogawa, H., Sato, M., and Yamashita, S.: Multiple sensitivity of chorda tympani fibres of the rat and hamster to gustatory and thermal stimuli. *J. Physiol.* 199 : 223-240, 1968.
- 23) Sato, M., Ogawa, H., and Yamashita, S.: Response properties of macaque monkey chorda tympani fibers. *J. Gen. Physiol.* 66 : 781-810, 1975.
- 24) Frank, M.: An analysis of hamster afferent taste nerve response functions. *J. Gen. Physiol.* 61 : 588-618, 1973.
- 25) Kitada, Y., and Shimada, K.: A quantitative study of the inhibitory effect of Na^{+} and Mg^{2+} on the Ca^{2+} response of water fibers in the frog tongue. *Jpn. J. Physiol.* 30 : 219-230, 1980.
- 26) Nomura, H., and Kumai, T.: Reflex discharge evoked by water stimulation on the frog tongue. *Brain. Res.* 221 : 198-201, 1981.
- 27) Kumai, T.: Reflex response of the hypoglossal nerve induced by gustatory stimulation of the frog tongue. *Brain. Res.* 208 : 432-435, 1981.
- 28) Nomura, H., and Kumai, T.: A specific chemoreceptor to the linguo-hypoglossal chemoreflex of the frog. *Jpn. J. Physiol.* 32 : 683-687, 1982.
- 29) Grill, H. J., and Norgren, R.: The taste reactiv-

- ity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain. Res.* 143 : 263-279, 1978.
- 30) Grill, H. J., and Norgren, R.: The taste reactivity test. II. Mimetic responses to gustatory stimuli in chronic thalamic and chronic decerebrate rats. *Brain. Res.* 143 : 281-297, 1978.
- 31) Bowerman, A. G., and Kinnamon, S. C.: The significance of apical K^+ channels in mudpuppy feeding behavior. *Chem. Senses* 19 : 303-315, 1994.