脂質成分の味要因解明へのアプローチ

林　由佳子（京都大学大学院農学研究科）

1. はじめに

食品の味を評価する場合，味に関しては5つの味（甘味・うま味・苦味・酸味・塩味）を基本にしている。この味覚の基本味に脂質の味は含まれていない。食品成分表を見る限り，脂質を含まない食品は飲料水や人工的に作成されたものだけである。脂質フリーと書かれたアイスクリームやヨーグルトは，かなり風味が落ちるのが実感としてわかっている。また，マーガリンとバター，植物性生クリームと動物性生クリームの味の違いも中に含まれる油の違いであろうといわれている。同量の脂質含量であっても，脂質の存在形態で味が変わるのは，霜降り肉と脂身のついた赤肉では味も食感もちがうことから実感できよう。このように『おいしい』と感じる食品には脂質が含まれ，その質や存在様式が味と重要な関わりがあると考えられる。最近脂肪酸を味受容細胞が感知しているという報告が出されている。脂肪酸は，食品中に遊離体として微量存在するだけではなく，口腔内のリパーゼによって脂肪から切り出されてくる。そうして口腔内では数μM濃度となった脂肪酸によって，味細胞が普遍的に持っている脂肪酸トランスポーターやカリウムチャネルが影響をうけ，基本味の受容に影響を与えていると考えられる。食品では油つまり脂肪（トリグリセリド）が脂肪酸を無視できるほど多量に存在していることから，含まれるトリグリセリドが味へなんらかの影響をしている可能性も十分考えられる。

そこで本研究では，脂肪酸や他の脂質の味を調べるため，脂質の種類と存在状態を変えたときの味の強度と質を味神経応答と味細胞応答から検討した。

2. マウス味細胞の脂肪酸応答

マウスはC57BL/6J JmsSlc系統のマウスを用いた。マウスは，多種多様な系統があり，目的に応じて系統を選択して研究が進められている。この系統は，ヒトと同様に5基本本味を判別できる数少ない系統のひとつであり，マウスゲノムプロジェクトに用いられたものと同一系統であることから，今後の研究においてゲノムからの情報も利用可能で発展性も期待できる。

味細胞は口腔内にある味を感知する細胞であり，味神経は味細胞で感知した応答を中枢（脳）に伝える神経である。味細胞も味神経も感覚器官であることから電気的応答を行うので電気生理学的に生きたままの状態で応答を記録できる利点を持っている。味細胞は口腔内に一面にあるわけではなく，集団で味蕾を形成し，それが乳頭を形成して主に舌の上皮内に局在してある。したがって，舌上皮全体の細胞数に比べて，味細胞の個数が非常に少ないので，バルクで実験できる味細胞を集めることは不可能に近い。そのうえ，5基本味の識別まで行っているので，バルクにした実験では細胞応答を捕まえにくい。そこで細胞を個別に測定できるパッチクランプ法を用いて記録した。

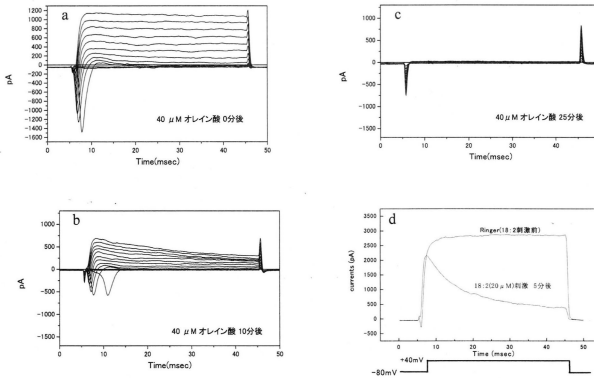

図1　味細胞の脂肪酸応答
a. オレイン酸刺激前 b. オレイン酸刺激 10 分後 c. オレイン酸刺激 25 分後 d. リノール酸刺激応答

2.1　方　法

脂肪酸種にはオレイン酸，リノール酸，リノレン酸を用いた。細胞外液にはリンガー液を細胞内液には擬似細胞内液を用いた。まず，C57BL/6J (8-11 週齢，雌）系統マウス舌より酵素処理と脱カルシウム処理によって単離した有郭乳頭または葉状乳頭由来の味細胞を，静止膜電位より少し深い－ 80 mV で保持し，瞬時に目的とする電位に保持し，40 ミリ秒後に元の－ 80mV に戻した。目的とする電位は－ 80mV から＋ 50mV まで 10mV 間隔で記録した。そのトレースを重ねて**図 1 a-c** に示してある。**図 1d** は，目的とする電位が－ 40mV のみを脂肪酸刺激前後で重ねてある。脂肪酸はリンガー液に溶解させて灌流方式で細胞に与えた。

2.2　結果と考察

パッチクランプ測定結果を**図 1** に示した。脂肪酸を与える前（**図 1a**）に比べて，脂肪酸を与えることにより電位刺激による電流量が減少した（**図 1b**）。そして 25 分後には容量成分を残して完全に消失していた（**図 1c**）。電流パターンから電位依存性チャネルへの影響を検討した結果，ナトリウムチャネル，一過性カリウムチャネル，遅延整流性カリウムチャネルいずれも抑制がかかったが，遅延整流性カリウムチャネルが最も敏感であった（**図 1b**）。この脂肪酸による影響は，細胞外液から脂肪酸を抜くことにより元に戻った。とくにアルブミンを添加すると速やかに戻った（データ記載せず）ので，脂肪酸によるチャネルの作用は，細胞外からと考えられる。脂肪酸をリノール酸にしたときも同様な結果を得た（**図 1d**）。脂肪酸応答は検討した味細胞（n=9）すべてに見られたが，特にリノール酸で速やかに見られた。この理由については，3 種の脂肪酸の中でリノール酸がリンガー液に一番分散しやすかったことも考えられるが，理由が味細胞の受容機構にあるとは一概に言及できず，更なる検討が必要である。

3. マウスの脂肪酸嗜好性

マウスは，一般に脂質に嗜好性を示し，特にC57BL/6J系統マウスは脂肪に強い嗜好性を持つ（Smith BK. *et al.* 2000）。脂質に嗜好性を示すのは，口腔内リパーゼによりトリアシルグリセロールから脂肪酸が切り出され，それを認識していることによることがラットで示されている（Kawai T & Fushiki T. 2003）。

3.1　方　法

脂肪酸としてリノール酸を2％の濃度で与え，C57BL/6J（14-15週齢，雌）マウスの嗜好性を調べた。同時に味神経である舌前半部を支配する鼓索神経（CT）と舌後半部を支配する舌咽神経（GL）を切断したマウスを用いて，この嗜好性が味由来かどうかを調べた。そして，脂肪酸を0.3％キサンタンガム溶液に分散させたテスト液とキサンタンガムのみの標準液で2瓶選択法を行った。テスト溶液と，標準液の二瓶を24時間ホームケージに提示し，摂取量を測定した。次に，瓶の左右の位置を入れ替えさらに24時間ホームケージに提示し，摂取量を測定後，2日間の飲水量を平均した。値が0.5であれば，どちらの液にも嗜好性のないことを示し，1に近づくにつれてテスト液に嗜好性があることを示し，反対に0に近づくにつれて忌避していることを示す。

3.2　結果と考察

図2に示すように味神経の切っていない偽手術群（sham群 n = 6）は，2％リノール酸に嗜好性（preference ratio=0.73）を示していた。これに対し，味神経切断群（CTx+GLx群 n = 8）ではリノール酸を忌避している（preference ratio=0.31）結果を得た。統計処理（*t* 検定）の結果，この両者には危険率 $p > 0.001$ で有意差があった。このことから，脂肪酸の持つ味以外の他の性質はマウスには好ましくないものであることが示唆された。そして，脂肪酸の味によって好んで摂取していることが明らかになった。他の報告からマウス（ddY系統であるが）は脂肪酸の濃度が3％までは嗅覚によりその嗜好性に影響を受けないことが報告されているため（Takeda M *et. al.* 2001），今回示した忌避の原因は他の感覚（粘性などの物性の微妙な違い，すなわち体性感覚）に起因するものと考えられる。これに関しては，更なる検討が必要である。

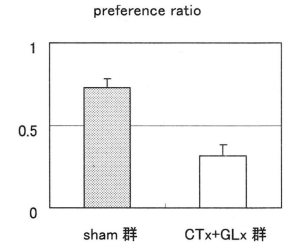

図2　リノール酸の嗜好性に対する味神経の影響
sham群：偽手術群，CTx+GLx群：味神経切断群

4. リン脂質のラット味神経応答記録

リン脂質のひとつの種類であるホスファチジルコリンは，細胞の膜の重要な構成成分であることと，コレステロールの排泄作用があることから，最近，健康食品として売り出されている。通称レシチンと呼ばれ，2つの脂肪酸とコリンがグリセロール骨格に結合している構造をとる（**図3**）。

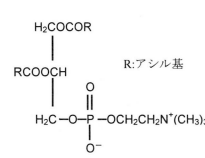

図3　ホスファチジルコリンの構造

界面活性作用も有することから，乳化作用を利用して，マヨネーズのように油と水が安定な乳化状態を示す食品が作られている。本研究では脂溶性の性質のために研究が進んでいなかった物質の味神経応答を記録した。

4.1　方　法

麻酔下のWistar系ラット（250-350g，雄）の頬から鼓索神経をとりだし，白金電極によってした神経活動を増幅したのち，積分器で積分した。味刺激は，MQ水で順応した舌に30秒間与え，その後，30秒間MQ水で洗浄した。味刺激液は，最終濃度5％（約65 mM）になるようにホスファチジルコリンをMQ水に溶解し，ボルテックス後，超音波で5分処理することによってリポソームを調製した。脂肪酸や難水溶性の苦味物質は，あらかじめホスファチジルコリンと共にクロロホルムで溶解し均一化した後に窒素ガスで乾燥を行い，上記と同様な処理を行った。

市販されている卵黄ホスファチジルコリン（純度70%以上）では，それ自体でかなり大きな味神経応答が記録された（データ記載せず）ことから，成分表記のある高純度の卵黄ホスファチジルコリン（**表1**）を使用した。それでもなお，応答が少し見られる（**図4**）が，味物質に見られるような濃度依存性はなかったので，何か非特異的なものであると考えられる。

4.2　結果と考察

オレイン酸，リノール酸，リノレン酸の味刺激に対する味神経応答を測定した結果，鼓索神経ではこれら脂肪酸に対する応答は測定できなかった（**図4**）。ラットは，この濃度のオレイン酸を識別でき，かつ，脂質を好んで摂取すること（Fukuwatari T. *et. al.* 2003）と考え合わせると，

表1　使用したホスファチジルコリン製品の分析値。
ホスファチジルコリンは卵黄由来である。

	含　量
ホスファチジルコリン	98.7 %
リゾホスファチジルコリン	0.1 %
スフィンゴミエリン	0.9 %
ホスファチジルエタノールアミン	0.1 %
中性脂質	0.1 %
遊離脂肪酸	0.1 %
水分	1.4 %
過酸化物価	4.4 meq/kg
重金属	10 ppm以下
砒素	2 ppm以下

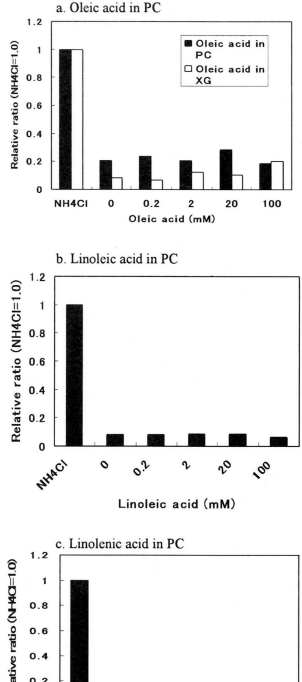

図4　リポソーム化した脂肪酸の鼓索神経応答：
a オレイン酸　b: リノール酸　c: リノレン酸

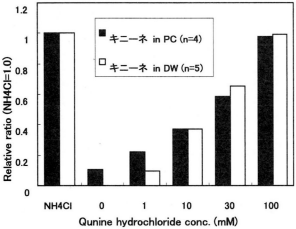

図5　ラット鼓索神経のキニーネ応答へのホスファチジルコリンの影響

口腔内での脂質の受容は味に関わる他の神経の舌咽神経や大錐体神経，体性感覚に関わる三叉神経によっても運ばれる可能性が考えられる。この結果からラットは，鼓索神経によって脂肪酸の味情報が送られている可能性が少ないもしくは，脂肪酸応答を伝える神経が少なく，検出できない可能性が考えられた。

次に，苦味物質であるキニーネをホスファチジルコリンと共にエマルションにし，鼓索神経応答を記録した（図5）。キニーネの低濃度の時には，リポソーム由来の応答が少し見られるが，キニーネ濃度神経応答が強くなると差が見られなくなった。この結果から，リン脂質によるリポソームは苦味応答には影響しないことがわかった。

ホスファチジン酸とβラクトグロブリンのリポタンパク質がカエルの味神経応答やヒトの官能検査において苦味をかなり押さえること（Katsuragi Y. *et. al.* 1997）が報告されているが，本実験のホスファチジルコリンによるリポソームではそのような影響は見られなかった。マヨネーズを作成するときに使用する卵黄の中には，タンパク質が約15%存在し，そのほとんどが高密度リポタンパク質，低密度リポタンパク質である。リポタンパク質はエマルジョン化のために利用されており，この味覚修飾作用に関しては研究がされていない。ちなみに，卵黄にはホスファチジン酸はほとんど含まれていない。

5. おわりに

脂質の存在による食品の風味がよくなることから，栄養的な面以上に嗜好的な面で脂質が食品に加えられている。現代社会ではエネルギー摂取過多から脂質をセーブすることが試みられているが，それと比例した風味の低下が問題となっている。そのため，脂質の味は国内外で注目を集め初めている研究課題であるが，基本味の受容メカニズムもいまだ解明途上の今，脂質受容に関する研究は少ない。そのなかで，脂肪酸の味に関した研究が国内外の2グループから報告されている。すなわち，脂肪酸によって味細胞の細胞膜上に存在する脂肪酸トランスポーターやカリウムチャネルのブロックによって，脂肪酸が受容されているメカニズムである。しかし，脂肪酸が脂肪の味として決め付けてカロリーの少ない脂肪酸を食品に混ぜると味とカロリーが一挙両側的に解決するというのはあまりに短絡である。

ヒトを用いた研究で，苦味に敏感な被験者は脂肪酸に敏感であることが報告されている（Nasser JA. *et. al.* 2001）。両物質とも疎水性が強いことが共通の特性であるが，両者の受容メカニズムはまったく違うと考えられている。いまだ，解明途上にある双方の受容メカニズムを明らかにするためにも本研究をさらに発展させていきたいと考えている。

謝辞

本研究に対し，多額の助成金を賜りました浦上食品・食文化振興財団に厚く御礼申し上げます。

参考文献

1）　Fukuwatari T, Shibata K, Iguchi K, Saeki T, Iwata A,

Tani K, Sugimoto E, Fushiki T. : Role of gustation in the recognition of oleate and triolein in anosmic rats. *Physiol Behav.* 2003 **78**(4-5): 579-83.

2) Katsuragi Y, Kashiwayanagi M, Kurihara K. : Specific inhibitor for bitter taste: inhibition of frog taste nerve responses and human taste sensation to bitter stimuli. *Brain Res Brain Res Protoc.* 1997 **1**(3): 292-8.

3) Kawai T, Fushiki T. : Importance of lipolysis in oral cavity for orosensory detection of fat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003 **285**(2): R447-54.

4) Nasser JA, Kissileff HR, Boozer CN, Chou CJ, Pi-Sunyer FX.: PROP taster status and oral fatty acid perception. *Eat Behav.* 2001 **2**(3): 237-45.

5) Smith BK, Andrews PK, West DB. : Macronutrient diet selection in thirteen mouse strains. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000 **278**(4): R797-805.

6) Takeda M, Sawano S, Imaizumi M, Fushiki T. : Preference for corn oil in olfactory-blocked mice in the conditioned place preference test and the two-bottle choice test. *Life Sci.* 2001 **69**(7): 847-54.

Approach to elucidate the factors for fat taste perception

Yukako Hayashi (Graduate School of Agriculture, Kyoto University)

Although fat is percepted in the oral cavity and related to food selection, fat is not classified to into basic tastes. Recent studies using rodents have suggested that fatty acids may play a role in dietary fat perception. Does fat have taste? This study focused how fat is recognized, and how the topological differences of fat relate to the other taste. First of all, effects of the fatty acid on the mouse taste cells were examined electrophysiologically. Three fatty acids (oleic acid, linoleic acid, and lenolenic acid) suppressed not only delayed rectifier potassium current but also all voltage dependent currents of all tested taste cells. These results suggested that the fatty acids affected the channels of taste cells nonspecifically.

Next, to clear the involvement of taste nerves, glossopharygeal and chorda tympani nerves, for perception of fat, both taste nerves were severed in mice. In the two bottle preference tests between 2 % oleic acid in xanthan gum and xanthan gum only, sham mice preferred to the fatty acid solution and severed mice did not show the preference to the fatty acid. These results show that the taste nerves convey the signal of fat, which are important factors for the palatability of fat.

Furthermore, effects the fat or fatty acid on five basic taste has been preliminary investigated using rat nerve recording. Phosphatidylcholine was not affected to bitter taste of quinine. More investigation is carrying out and the results could reveal the mechanism of fat perception.