

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 石井 翔

酢酸は、一般的な食酢中に 500~1,000 mM 程度の濃度で含まれる有機酸であり、食酢中の主要酸味成分である。食酢は古来より世界中で使用され、酸味調味料の代表的存在であるものの、食酢が酸味調味料として用いられる上で最も重要といえる、酢酸の有する呈味発現機構について、十分に解明されていないのが現状であった。本研究は、酢酸の有する呈味発現機構の解明について、詳細に検討したものである。

第 1 章の序論に続き、第 2 章では酸によって活性化されるチャネルである PKD1L3/PKD2L1 について、酢酸刺激に対する応答性評価手法の改良とその応答評価について述べている。PKD1L3/PKD2L1 は一部の味細胞において共発現する酸味受容体候補分子であり、両サブユニットから構成されるイオンチャネルを形成している。哺乳類培養細胞に PKD1L3/PKD2L1 を共発現させると、塩酸やクエン酸刺激を行った後に pH を中性に戻すことによって開口し、ナトリウムイオンやカルシウムイオンなどの陽イオンが透過することがこれまでに示されている。しかし酢酸を培養細胞に投与すると、酸味受容体非依存的な内因性の応答を示すため、酢酸刺激が PKD1L3/PKD2L1 を活性化しうるかどうかについて、これまで実験的に明らかにされてこなかった。そこで、酢酸の投与方法や応答解析時間の最適化を行うことで、内因性応答の影響をできるだけ排除した応答記録を実施することに成功した。その結果、PKD1L3/PKD2L1 に酢酸刺激を行うと、他の酸刺激と同様に、pH を中性に戻すことによってチャネルが活性化されることが示された。すなわち、酢酸の示す酸味についても、PKD1L3/PKD2L1 を介して受容されることが示唆された。

第 3 章においては、PKD1L3/PKD2L1 の薬理的性質の解明を目的とし、チャネル応答を抑制する阻害剤の探索を実施した。その結果、辛味を呈する物質として知られるカプサイシンに、チャネル活性の抑制能が認められることを明らかにした。カプサイシンの類縁体についても幅広く探索した結果、抑制効果を有する類縁体を複数同定することができた。カプサイシンの IC₅₀ 値は約 32.5 μM であり、この濃度は、通常喫食する食品に含まれる濃度を大きく逸脱しないものであった。また、マウスの舌から摘出した味細胞が酸刺激に対

して示す応答についても、カプサイシンは抑制することができた。したがって、カプサイシンが酢酸の酸味を抑制する物質となる可能性が示された。

第 4 章においては、前述した酢酸が誘起する培養細胞内因性応答の発生要因について、解析を実施した。pH や濃度を厳密に制御した酢酸溶液を準備し、これらを培養細胞に投与した際の細胞応答を観察した結果、酢酸は非解離型の状態で細胞膜を透過し、細胞内を酸性化することによって内因性応答を誘起することを明らかにした。また、クエン酸や塩酸など、親水性が高い酸を投与した際にはこの作用は認められず、蟻酸、プロピオン酸、酪酸のように、酢酸と同様に疎水性が高い酸を投与した際には、内因性応答を誘起しうることが判明した。すなわち、生体細胞における酸刺激受容を考察する上で、pH のみならず、酸分子の化学的性質が細胞の反応性を大きく左右しうるといふ、新たな視点を提起することができたといえる。さらに、酢酸の酸味が他の酸よりも強く感じられることの発生要因として、細胞膜透過能や細胞内酸性化能といった酸の化学的性質が関与しうることについても、同時に示唆することができた。

以上、本研究では、PKD1L3/PKD2L1 の薬理的性質の解明や、酸の化学的性質が細胞応答に影響することを明らかにすることができた。本研究成果は、酢酸の有する呈味発現機構について新たな知見を提供するとともに、酢酸の呈味制御を通じて、食酢の静菌作用・健康機能をより容易に享受せしめる手段についても示したものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。