

# GAD67の活性に影響を与える食品成分と味覚の伝達との関連 — ハーブに含まれる食品成分による酸味と甘味に与える影響 —

Relationship between food ingredients that affect the activity of GAD67 and taste transmission:  
Evaluation of the effect of food ingredients in herbs on the sour and sweet taste sensation

佐々木公子<sup>1)</sup>・龜山菜美子<sup>1)</sup>・園部 菜穂<sup>1)</sup>・濱野 香里<sup>2)</sup>・植野 洋志<sup>2)</sup>

キーワード：GAD67、GABA、ハーブ、官能試験

## 1. 緒 言

高齢化社会の日本においては、生活習慣病が大きな社会問題となっている。平成22年国民健康・栄養調査によると<sup>1)</sup>、医療機関や健診で「高血圧」といわれたことがある者の割合は、男性37.2%、女性31.3%で、平成12年の男性25%、女性23.4%に比べて、男女とも増加している。また、高血圧といわれたことがある者のうち、過去から現在にかけて治療を受けている者の割合は、男性69.2%、女性78.1%で、日本の医療費圧迫の大きな要因ともなっている。高血圧の予防としては、食生活における食塩摂取量の低減があげられる。また、食酢の主成分である酢酸は、血圧低下作用<sup>2)</sup>や内臓脂肪の減少効果<sup>3)</sup>など、幅広い生活習慣病の予防と改善に役立つことが検証されている。しかし、酢酸特有の刺激的酸味のため、継続的な摂取が困難となっている。そこで、少量の塩分で塩味が増強できたり、特有の酸味を抑制できる安全性の高い味覚改変物質が開発できたりすれば、生活習慣病の予防がより可能となるだろう。

味覚は甘味、塩味、酸味、苦味、うま味の基本五味に分類されている。代表的な味物質としては、甘味 sucrose、塩味 sodium chloride (NaCl)、酸味 citric acid、苦味 quinine sulfate、うま味 monosodium glutamate (MSG) がある。甘味はエネルギー源、

塩味はミネラル源、うま味はたんぱく質源の、強い酸味は腐敗物、苦味は毒物を推定させるシグナルとして感知される。これらのシグナルによって、我々の味に対する嗜好や回避が決まる。しかし、これらの味覚受容と伝達機構について、完全に解明されているわけではない。

味の情報は口腔内に散在する味蕾で受容される。味蕾は50~100個の味細胞から成る玉ねぎ状の形態をしている。味細胞は形態学的に紡錘形のⅠ型、Ⅱ型、Ⅲ型細胞と丸型のⅣ型細胞に分類されている<sup>4)</sup>。

現在、基本五味の受容体候補はほぼ特定されており、甘味・うま味・苦味はⅡ型細胞において、それぞれの味物質が G-タンパク質共役受容体に結合して味が感知されると考えられている。ところが、Ⅱ型細胞は味覚神経と直接シナプス接続していないことより<sup>5)</sup>その神経への情報伝達については、ATP説や味覚神経と接続のあるⅢ型細胞経由説などが提唱されている<sup>6,7)</sup>。

塩味はシナプス接続のあるⅢ型細胞で発現するナトリウムイオンチャネルが受容体となり、Na<sup>+</sup>が細胞内に流入して細胞が脱分極されて感知すると考えられており、上皮性アミロライド感受性ナトリウムチャネルのENaCが第一候補となっている<sup>8,9)</sup>。

酸味(H<sup>+</sup>)も塩味と同様に、Ⅲ型細胞においてイオンチャネルを介して味を感知する。酸味受容体候補

美作大学生活科学部食物学科<sup>1)</sup>  
奈良女子大学<sup>2)</sup>

は、Transient receptor potential (TRP) チャンネルに属するPKD2L1とPKD1L3で、Ⅲ型細胞に発現しており、今後、酸味の受容機構が明らかになりつつある<sup>10)</sup>。酸味の情報伝達に関しては、塩味と同様に、まだ詳細は明らかになっていない。

近年、シナプス接続のあるⅢ型細胞に、グルタミン酸脱炭酸酵素 (glutamate decarboxylase : GAD) のアイソフォームの一つであるGAD67が発現し、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (Gamma-aminobutyric acid : GABA) を合成していることが示された<sup>11)</sup> (図1)。GADは、グルタミン酸を脱炭酸することでGABAを合成する酵素で、GAD65とGAD67と命名された2種類のアイソフォームが存在する。

また、GABAの受容体たんぱく質であるGABA<sub>A</sub>受容体の味蕾での発現も確認されており、GABAの味覚での役割に注目できる。興味深いことに、GABA<sub>A</sub>受容体はクロライドイオンチャンネル型受容体であることより、GABAと塩味との関係が示唆された<sup>12)</sup>。

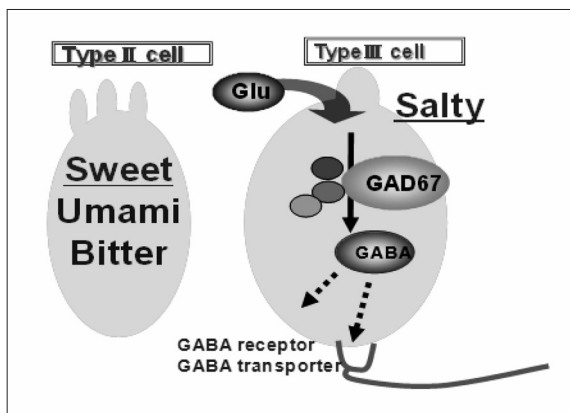


図1 Type II cellとType III cellの味覚伝達

さらに最近の研究では、酸刺激により、Ⅲ型細胞からGABAとセロトニンの放出が報告されている<sup>13)</sup>。Ⅲ型細胞では、酸味の受容が行われると細胞内へのCa<sup>2+</sup>イオンの流入が起こり、GABAやセロトニンなどの情報伝達物質が放出されると理解される。Ⅱ型細胞では、甘味と苦味の受容によりATPがヘミチャンネルより放出され神経へと伝達され、かつATPはⅢ型細胞でCa<sup>2+</sup>イオンの流入を起し、セロトニンが放出され

ることが示唆されている。現時点では、GABAやセロトニンが味覚の伝達物質とは明らかになっていないが、Ⅱ型細胞とⅢ型細胞が影響し合い、昔から調理で知られている味の相互作用のようなことがあるのではないかと考えられる。

また、皮膚や臓器でのGADの発現<sup>14)</sup>が報告されたことから、食べ物を味わい(舌)、消化(胃、小腸)する過程で、それらの部位に局在化するGADが消化管の運動や消化酵素の分泌などにかかわっている可能性は否定できない。Ⅲ型細胞でのGAD67を介した味覚シグナルの伝達機構の存在を仮定すれば、GABA合成能、すなわちGAD67の活性を調節する外部因子は、酸味や塩味の味覚情報に直接影響を与えることが想像できる。このようなGABA産生システムの制御を担う外部因子を食品成分に求めるのは自然なことと考える。そのような食品成分においては、塩味や酸味のかかわりから、味覚を改変することが可能かもしれない。

そこで、料理に広く使用されているハーブの食品成分のうち、in vitroでGAD67の活性に影響を与えた食品成分が酸味にどのような影響を与えるのかを、ヒトによる味覚官能試験を用いて調べた。酸味として食酢の主成分である酢酸を使用した。

また、Ⅲ型細胞内で合成されるGABAが、Ⅱ型細胞で受容される味覚に影響するかは解明されていない。そこで、Ⅱ型で受容される味覚のうち甘味について、酸味と同様の官能試験を行い、食品成分によるGAD67の活性と甘味への効果の関連についても検討した。

## 2. 方法

- 1) 期間：2012年4月～7月
- 2) 対象者：美作大学食物学科の女子学生  
35名 (18歳～22歳)
- 3) 環境：各官能試験は、場所 (調理実習室)・時間帯 (11:00～17:00)・室温 (21～25℃) など、同じ条件で行った。

#### 4) 食品成分のGAD67活性への影響

##### (1) 食品成分の抽出及び調製

###### ①食品リスト

シソperilla、マイカイカrose rugosa、メース mace、パプリカpapurika、ユズ皮yuzu peel、カモミールgerman chamomile、ウーロンoolong、レモングラスlemongrass、バジルbasil、オレガノoregano、ペパーミントpeppermint、パセリparsley、アニス anise、クミンcumin、ケシノ実poppy seed、ジンジャー ginger (ハウス食品株式会社ソマテックセンター・市販品)

###### ②食品成分の抽出法と調整

i. oolong、oregano、peppermint、perilla、papurika、mace、parsley、乳鉢ですったgerman chamomile、1 cm程度に切断したlemongrass、粉碎したyuzu peelは、食品重量の10倍量の超純水を加えて冷蔵庫で一晩放置した。その後、32折りにしたろ紙(110mmペーパーフィルター)を用いて水溶性成分をろ過したものを食品抽出液とした。

ii. basil、乳鉢ですった rose rugosa、poppy seed、anise、cuminは、食品重量の5倍量の超純水を加えて冷蔵庫で一晩放置した。その後、iと同様にろ過し、抽出水の重量倍率をiと同じにするため、同量の超純水で希釈したものを食品抽出液とした。

iii. 各食品抽出液5 mlを乾熱滅菌器(105°Cで2時間)で乾燥させ、1 ml当たりの乾燥物量を求めた(表1)。

##### (2) GAD67酵素液の精製

GAD67は、奈良女子大学 植野研究室で開発してきたGST融合タンパク質 GST-GAD67 (Rosetta-gamiB (DE3)pLysS)発現系を用いて誘導発現を行った。

さらに、菌体破碎後、硫酸アンモニウム分画、アフィニティークロマトグラフィー、トロンピンプロテアーゼ処理によって精製GAD67酵素液を準備した。

##### (3) GABA量の測定

GABA量の測定は、基質であるL-glutamateと補酵素であるpyridoxal 5'-phosphate (PLP) を含むassay mixture 100  $\mu$ l (0.5M HEPES buffer (pH

7.0)、0.2M L-glutamate (pH7.5)、0.002M PLP) にGAD67酵素液を加え、1000  $\mu$ lになるよう超純水を加えて37°Cで1時間反応させた後、60%PCA50  $\mu$ lを加えて反応を止めた。ブランクとして、あらかじめPCAを加えておいたものを37°Cで1時間おいた後、遠心をかけた上清をHPLC誘導液と反応させてバイアルに移し、HPLCでGABA量を測定した<sup>15,16)</sup>。

##### (4) 食品成分のGAD67相対活性 (%) の算出

GAD67相対活性 (%) とは、食品成分無添加をコントロールとした時のGAD活性の割合である。

すなわち、あらかじめ食品より抽出した成分(粉末抽出液100  $\mu$ l、粗みじん切りの抽出液50  $\mu$ l)を、活性測定液中に添加した場合に生成したGABA量(反応時間1分間当たりかつタンパク質1g当たり)と、食品成分を添加しない場合に生成したGABA量(反応時間1分間当たりかつタンパク質1g当たり)を比較し、食品成分のGAD67相対活性 (%) を求めた。

得られた酵素液に含まれるタンパク質量は、Bradford法 (Protein Assay染色液 [Bio-Rad(株)製]) に準じ定量した。なお、StandardとしてBSA (bovine

表1 ハーブとその抽出液の内容

試料	部位	抽出液	
		pH	乾燥重量 mg/ml
anise	seed	5.3	32.0
basil	leaf	6.1	41.0
celer	setm and leaf	7.5	66.0
cumin	seed	6.0	28.5
german chamomile	flower	5.4	25.9
ginger	root and rhizme	6.0	29.0
lemongrass	leaf	5.6	27.0
mace	aril	4.0	13.0
oolong tea	leaf	5.8	30.0
oregano	leaf	6.5	30.0
paprika	fruit	4.6	25.0
parsley	leaf	5.3	40.0
peppermint	leaf	6.0	50.0
perilla	leaf	6.0	20.5
poppy seed	seed	7.0	13.0
rose rugosa	flower	4.4	47.0
yuzu peel	peel	3.7	73.5

乾燥重量：食品成分抽出液1 ml当たりの乾燥物重量

serum albumin) 標準溶液を用いた。

### 5) 官能試験

官能試験の手順は、「おいしさを測る 食品官能試験の実際」<sup>17)</sup> に準じた。

各官能試験は、事前に試験の目的・方法を説明し、内容を十分に理解してもらったうえで実施した。

また、本試験は「美作大学 倫理審査委員会」の承認を得て行った。

試薬はナカライテスク(株)、和光純薬(株)、Bio-Rad(株)、Sigma(株)製の市販特級品を使用し、試薬の溶媒には超純水を用いた。

#### (1) パネルの酸味および甘味の識別能力の確認

パネル (35名) を対象とし、濃度の異なる 2 つの溶液 (酸味・甘味) を比較し、各味の強い方を判断する 2 点比較法を実施した。

手順

- ①コップの水で口をすすぐ。
- ②Aの試料を口に含み、舌の全面に広げながら味わったら、飲み込むか吐き出す。
- ③コップの水で口をすすぐ。
- ④Bの試料も②～③の手順で比較試験を行う。

[注] 判断に迷う場合は、同じ試料を再度、味わってもよいこと。また、一人ひとり試料の順は変えてあり、試料を入れる容器には10mlの試飲用カップを使用した。酸味と甘味の各試料の濃度は、表 2 に示した。

表 2 試料の濃度 (pH)

試料	A	B
酸味 (酢酸)	0.03% (3.6)	0.01% (3.8)
甘味 (スクロース)	3.0% (5.9)	2.5% (5.8)

#### (2) 食品成分が酸味および甘味に与える影響

ハーブを中心とした食品成分が酸味に与える影響について、官能試験により検討した。

なお、対照として II 型細胞で受容される甘味についても同様の官能試験を行った。

酸味は、0.1% 酢酸溶液 (pH3.3) と 0.01% 酢酸溶液 (pH3.8)、甘味は、3.0% スクロース溶液 (pH5.9)

を用いた。食品成分の抽出液は、粉末品もしくは粉碎品の g 重量に対し 5 倍もしくは 10 倍量の蒸留水を加え、冷蔵庫 (4 ~ 6 °C) で一晩抽出後上清を得た。官能試験が可能な濃度に調整し、約 0.5 ~ 1 ml ほどを口に含んでもらった。官能試験に用いた食品は、食品リスト (celery を除く) に準じた。

#### ① 0.1% 酢酸溶液について

酸味溶液 → ハーブ抽出液 → 酸味溶液の順に飲み、酸味の強さの変化を評価した。

#### ② 0.01% 酢酸溶液について

酸味溶液 → ハーブ抽出液 → 酸味溶液の順に飲み、酸味の強さの変化を評価した。

#### ③ 3.0% スクロース溶液について

甘味溶液 → ハーブ抽出液 → 甘味溶液の順に飲み、甘味の強さの変化を評価した。

手順

- i. 酢酸溶液もしくはスクロース溶液を口に含んで味わった後、飲み込むか吐き出す。
- ii. 口をすすぎ、ハーブを口に含んで飲み込むか吐き出した後、酢酸溶液もしくはスクロース溶液を口に含み、味わった後、飲み込むか吐き出す。

[注] ハーブ抽出液は、10ml の試飲用カップに入れた。

酢酸溶液とスクロース溶液は、75ml のポリエチレンコート紙コップに入れた。

統計処理は、2 点比較法のための検定表<sup>18)</sup> により検定した。なお、パネルの濃度差識別能力は片側検定、ハーブの抽出液による酸味および甘味の強さの変化は、両側検定とした。

## 3. 結果

### 1) 食品成分の GAD67 活性への影響

GAD67 酵素と基質である L-glutamate で調整した反応液に、ハーブの抽出液を添加した場合と添加しなかった場合に生成した GABA 量を測定し、ハーブが与える GAD67 活性への効果の相対比 (%) を算出した (図 2)。GAD67 相対活性 (%) がプラスになれば、食品成分により GAD67 の活性が促進されたことを示し、相対活性 (%) がマイナスになれば、食品成分に

よりGAD67の活性が阻害されたことを示す。

yuzu peel、anise、cumin、celeryはGAD67活性を促進させた。逆にrose rugosa、german chamomile、lemongrass、oolong tea、oregano、peppermint、prrilla、gingerはGAD67活性を強く阻害した。とくにrose rugosaは90%以上の阻害を示した。また、mace、poppy seed、basilは、GAD67活性にはほとんど影響を与えなかった。

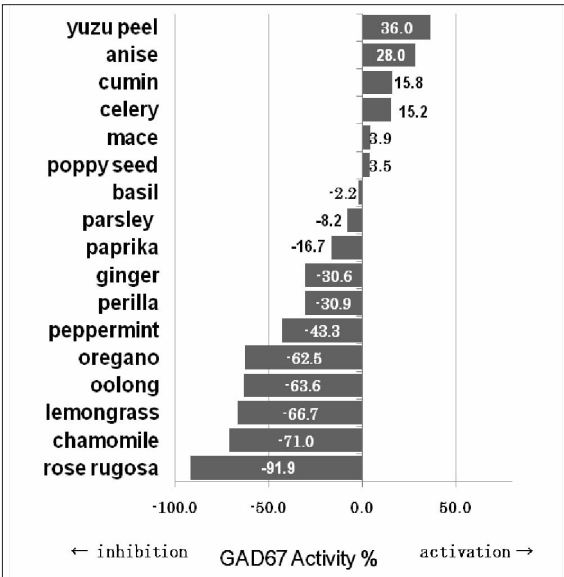


図2 食品抽出物によるGAD67相対活性比  
GAD67相対活性(%)：食品成分無添加をコントロールとしたときのGAD活性割合

## 2) 官能試験

### (1) パネルの酸味および甘味の識別能力の確認

パネル(酸味：35名 甘味：35名)を対象とし、酸味濃度(0.03%と0.01%)および甘味濃度(3.0%と2.5%)について、パネルの濃度差識別能力を官能試験により確認した。

有意水準0.1%で、酸味溶液の濃度差0.02%および甘味溶液の濃度差0.5%に関して、パネルに識別能力があると判定した(表3)。

### (2) 食品成分が酸味および甘味に与える影響

ハーブを中心とした食品成分が、味蕾内GAD67活性に影響を与えることが明らかになったことから、これらのハーブの抽出液により、酸味および甘味の強さ

がどのように変化するかを官能試験により検討した。

#### ①0.1%酢酸溶液について

酸味溶液→ハーブ抽出液→酸味溶液の順で口を含むか飲んでもらい、酸味の強さの変化を「強くなった」「弱くなった」かで評価してもらった(表4)。

16種類の食品成分のうち、cumin、papurika、prrillaの抽出液は、有意水準0.1%で酸味は増強された。mace、rose rugosaの抽出液は、有意水準1%で酸味は増強され、lemongrassとoolongの抽出液は、有意水準5%で酸味は増強された。そのほかのハーブ抽出液では有意差はみられなかったが、basil、peppermint、yuzu peelについては、被験者の60%以上が「強くなった」と回答した。

表3 酸味と甘味の濃度差識別

試料	味が強いと感じた人数
0.01%酸味(酢酸)	0
0.03%酸味(酢酸)	35***
2.5%甘味(スクロース)	8
3%甘味(スクロース)	27***

\*\*\*：有意水準0.1%

#### ②0.01%酢酸溶液について

酸味溶液→ハーブ抽出液→酸味溶液の順で口を含むか飲んでもらい、酸味の強さの変化を「強くなった」「弱くなった」かで評価してもらった(表5)。

16種類の食品成分で、評価に有意な差はみられなかったが、mace以外のハーブ抽出液では「弱くなった」と回答した。そのうち10種類のハーブ抽出液では、被験者の60%以上が「弱くなった」と回答した。

#### ③3.0%スクロース溶液について

甘味溶液→ハーブ抽出液→甘味溶液の順で口を含むか飲んでもらい、甘味の強さの変化を「強くなった」「弱くなった」かで評価してもらった(表6)。

16種類の食品成分のうち、anise、poppy seedの抽出液は、有意水準1%で甘味は増強され、lemongrass、oolong tea、yuzu peelの抽出液は、有意水準5%で甘味は増強された。有意差がみられなかったハーブ抽出液のうち、basil、german



chamomile、ginger、oregano、parsley の 5 種類は、被験者の60%以上が「弱くなった」と回答した。

### (3) GAD67活性の制御に係わる食品成分と味覚強度の関係

in vitroでGAD67の活性に影響を与えた食品成分が味覚にどのような影響を与えるのかを、ヒトによる味覚官能試験を用いて調べた。

表4 食品成分による0.1% 酸味強度の変化

試料	パネル数	強くなった	弱くなった	検定
anise	34	20	14	—
basil	34	23	11	—
cumin	33	28	5	***
german chamomile	33	16	17	—
ginger	33	18	15	—
lemongrass	34	24	10	*
mace	35	27	8	**
oolong tea	35	24	11	*
oregano	34	20	14	—
paprika	35	28	7	***
parsley	33	17	16	—
peppermint	35	21	14	—
perilla	33	27	6	***
poppy seed	32	15	17	—
rose rugosa	33	25	8	**
yuzu peel	33	22	11	—

\*\*\*：有意水準 0.1%

\*\*：有意水準 1%

\*：有意水準 5%

—：有意水準 なし

表5 食品成分による0.01% 酸味強度の変化

試料	パネル数	強くなった	弱くなった	検定
anise	34	15	19	—
basil	34	13	22	—
cumin	32	14	18	—
german chamomile	32	8	24	—
ginger	33	15	18	—
lemongrass	33	12	21	—
mace	34	18	16	—
oolong tea	34	14	20	—
oregano	34	14	19	—
paprika	35	13	22	—
parsley	33	13	20	—
peppermint	35	11	24	—
perilla	33	11	22	—
poppy seed	33	9	24	—
rose rugosa	33	15	18	—
yuzu peel	33	11	22	—

—：有意水準 なし

官能試験で「強くなった」と評価した者の割合から「弱くなった」と評価した者の割合を引いた値を酸味効力(%)もしくは甘味効力(%)と設定し、食品成分による酸味もしくは甘味の増強効果の指標とした(表7、8、9)。この指標とGAD67相対活性比(図2)を比較した。横軸に食品成分のGAD67相対活性(%), 縦軸を酸味効力もしくは甘味効力として、各食品成分の交点を○で示した(図3、4、5)。

### ①GAD67活性の制御にかかわる食品成分と酸味効力との関連

官能試験で使用した食品成分(16種類)では、GAD67相対活性(%)と0.1%もしくは0.01%酢酸溶液の酸味効力の間には関連性は認められなかった(図3、4)。

### ②GAD67活性の制御にかかわる食品成分と甘味効力との関連

II型細胞で受容される甘味の信号が、III型細胞内において作動するGAD67とGABAの影響を受けるのかを、GAD67相対活性(%)と3.0%甘味効力を比較することで検討した。官能試験で使用した全食品成分(16種類)では、甘味効力とGAD67相対活性(%)の間

表6 食品成分による3.0% 甘味強度の変化

試料	パネル数	強くなった	弱くなった	検定
anise	34	19	15	**
basil	34	10	24	—
cumin	35	17	18	—
german chamomile	33	10	23	—
ginger	35	13	22	—
lemongrass	35	24	10	*
mace	35	19	16	—
oolong tea	35	25	10	*
oregano	34	11	11	—
paprika	35	23	12	—
parsley	35	12	12	—
peppermint	35	16	16	—
perilla	33	17	16	—
poppy seed	35	26	9	**
rose rugosa	33	11	22	—
yuzu peel	33	23	10	*

\*\*：有意水準 1%

\*：有意水準 5%

—：有意水準 なし

には関連性は認められなかった (図5)。

#### 4. 考察

シナプス接続のあるⅢ型細胞では、GAD67が発現してGABAが合成されているとの報告がある<sup>11)</sup>。また、GABAが基本五味に与える影響では、Ⅱ型細胞

表7 GAD67活性と酸味効力 (0.1%)

試料	GAD67活性	味効力
	%	%
anise	28.0	17.6
basil	-2.2	35.3
cumin	15.8	69.7
german chamomile	-71.0	-3.0
ginger	-30.6	9.0
lemongrass	-66.7	41.2
mace	3.9	54.3
oolong tea	-63.6	37.1
oregano	-62.5	17.6
paprika	-16.7	60.0
parsley	-8.2	3.0
peppermint	-43.3	20.0
perilla	-30.9	63.6
poppy seed	3.5	-6.3
rose rugosa	-91.9	51.5
yuzu peel	36.0	33.3

表8 GAD67活性と酸味効力 (0.01%)

試料	GAD67活性	味効力
	%	%
anise	28.0	-11.8
basil	-2.2	-26.5
cumin	15.8	-12.5
german chamomile	-71.0	-50.0
ginger	-30.6	-9.1
lemongrass	-66.7	-27.3
mace	3.9	5.9
oolong tea	-63.6	-17.6
oregano	-62.5	-15.2
paprika	-16.7	-25.7
parsley	-8.2	-21.2
peppermint	-43.3	-37.1
perilla	-30.9	-33.3
poppy seed	3.5	-45.5
rose rugosa	-91.9	9.1
yuzu peel	36.0	-33.3

表9 GAD活性と甘味効力 (3.0%)

試料	GAD67活性	味効力
	%	%
anise	28.0	11.8
basil	-2.2	-41.2
cumin	15.8	-2.9
german chamomile	-71.0	-39.4
ginger	-30.6	-25.7
lemongrass	-66.7	41.2
mace	3.9	-25.7
oolong tea	-63.6	42.9
oregano	-62.5	-35.3
paprika	-16.7	31.4
parsley	-8.2	-31.4
peppermint	-43.3	-8.6
perilla	-30.9	3.0
poppy seed	3.5	48.6
rose rugosa	-91.9	-33.3
yuzu peel	36.0	39.4

で受容される甘味やうまみ、苦味の強さは、GABAを添加しても影響されないが<sup>19)</sup>、酸味<sup>20)</sup> および塩味<sup>21)</sup>の強さは、GABA添加で増強したとの報告がある。

Ⅲ型細胞内でのGAD67を介した味覚シグナルの伝達機構が明らかになれば、GABA合成酵素であるGAD67の活性を阻害したり促進したりすることは、味覚情報に直接影響を与えることが考えられる。さらに、GAD67の活性に影響する食品成分を探索し、その食品成分と酸味のかかわりから、味覚を改変する食品成分を同定することも可能かもしれない。

そこで、GAD67の活性に影響する食品成分を探索するため、料理に広く使用されているハーブの抽出液を用いて、GAD67の活性を検討した。その結果、ハーブの抽出液には、GAD67の活性を促進させたり強く阻害したり、あるいは活性にほとんど影響しないものがあった。種々の食品成分は、GAD67の活性に影響を与えることが明らかになった。

次にGAD67の活性を制御する食品成分と、その食品成分が酸味や甘味に与える効果との関連性を、ヒトによる官能試験で検討した。ただし、Ⅲ型細胞内でGAD67によって合成されるGABAが、Ⅱ型細胞で受容される味覚に影響するかは解明されていない。そこ

で、Ⅱ型で受容される味覚のうち甘味について、酸味と同様の官能試験を行い、食品成分によるGAD67の活性と甘味への効果の関連についても検討した。

0.1%酢酸溶液では、cumin、papurika、perilla の抽出液は酸味を有意に増強した。0.01%酢酸溶液では、これらのハーブ抽出液は、酸味の感じ方に影響しなかった。酸味濃度が低い場合、ハーブ抽出液による味の変化を感じにくいのかかもしれない。酸味については、何段階かの低濃度での官能試験を設定する必要がある。

本研究では、0.1%および0.01%酸味効力とGAD67相対活性(%)との間に関連性が認められなかったことより、Ⅲ型細胞内において発現しているGAD67もしくはGABAは、Ⅲ型細胞で受容される酸味伝達とは、お互いに干渉しない可能性が示唆された。

Ⅱ型細胞で受容される甘味についても、甘味効力とGAD67相対活性(%)との間に関連性が認められなかったことより、Ⅲ型細胞内において発現しているGAD67もしくはGABAは、Ⅱ型細胞で受容される甘味伝達に影響しない可能性が示唆された。

Ⅱ型細胞で受容される甘味に関しては、GABAとの関連性を示す結果は得られなかったが、GABAは甘味を強めないという官能試験の結果<sup>19)</sup>と一致した。

味に対する人の感覚は、口中を一瞬に過ぎていくため、なかなか分かりにくい。予備実験のとき、1回の試飲では味の強さの変化はわからないという学生が多

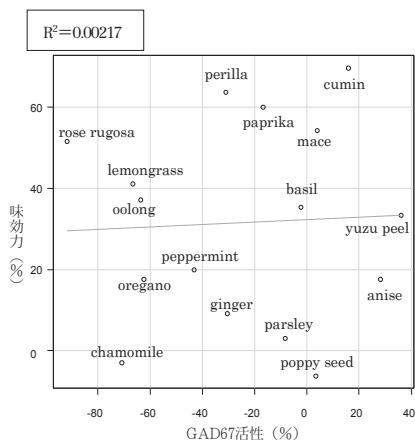


図3 食品成分のGAD67活性と味効力 (0.1% 酸味)

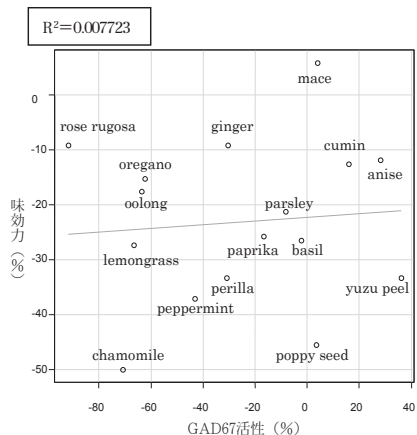


図4 食品成分のGAD67活性と味効力 (0.01% 酸味)

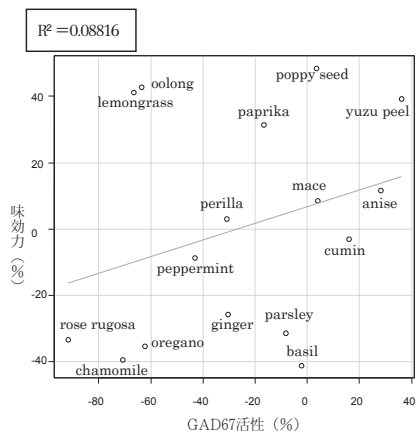


図5 食品成分のGAD67活性と味効力 (3.0% 甘味)

かった。パネルとしての訓練を受けていない本学学生では、1回試飲による官能試験で判断するには限界があると考え、あえて再度味わってもよいとした。パネルの訓練については、今後の課題である。

## 5. 要約

味蓄外からGAD67の活性を制御することは可能なのかを検討するため、料理によく使用されているハーブを用いて、ヒトによる味覚官能試験により味覚伝達(酸味と甘味)への影響と、in vitroでのGAD67酵素の活性への効果との関連性について検討した。

官能試験は、2012年4月から7月までの期間に、美作



大学食物学科の女子学生（35名）を対象として実施した。

（1）16種類の食品成分のうち、7種類（cumin、papurika、prrilla、mace、rose rugosa、lemongrass、oolong tea）のハーブ抽出液は、0.1%酢酸溶液の酸味を有意に増強した。

（2）16種類の食品成分では、0.01%酢酸溶液の酸味の感じ方に影響はなかった。

（3）16種類の食品成分のうち、5種類（anise、poppy seed、lemongrass、oolong tea、yuzu peel）のハーブ抽出液は、3.0%スクロース溶液の甘味を有意に増強した。

（4）0.1%および0.01%酸味効力とGAD67相対活性（%）の間には、関連性は認められなかった。

（5）3.0%甘味効力とGAD67相対活性（%）の間には、関連性は認められなかった。

以上のことより、in vitroでGAD67の活性に影響を与えた水溶性の食品の抽出物は、味蕾において酸味および甘味を増強あるいは抑制した。しかし、酸味効力および甘味効力とGAD67相対活性（%）の間に関連性は認められなかったため、Ⅲ型細胞内において発現しているGAD67もしくはGABAを介した味覚伝達とは関係を明らかにすることはできなかった。この結果は、GABAは甘味を強めないという報告と矛盾しない。

今後は、Ⅱ型細胞で受容されるうま味や苦味についても、GAD67もしくはGABAを介した味覚伝達について検討する必要がある。

#### 参考文献

- 1) 平成22年国民健康・栄養調査報告, 159, 厚生労働省, 2012.
- 2) S.Sakakibara, R.Murakami, M.Takahashi, T.Fushimi, M.Kishi, T.Murohara, Y.Kajimoto, M.Kitakaze, T.Kaga, Vinegar intake enhances flow-mediated vasodilatation via upregulation of endothelial nitric oxide synthase activity. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 74 (5), 1055~1061, 2010.
- 3) T.Kondo, M.Kishi, T.Fushimi, S.Ugajin, T.Kaga, Vinegar intake reduces body weight, body fat mass, and serum triglyceride levels in obese Japanese subjects. *Biosci Biotechnol Biochem*, 73 (8), 1837~1843, 2009.
- 4) R.G. Murray, The ultrastucture of sensory organs. *American Elsevier*, 1~18, 1973.
- 5) S. Kataoka, R. Yang, Y. Ishimaru, H. Matsunami, J. Seigny, J.C. Kinnamon, T.E. Finger, The candidate sour taste receptor, PKD2L1, is expressed by type III taste cells in the mouse. *Chem Senses*, 33, 243~254, 2008.
- 6) Y. Ninomiya, 食の調節情報としての味覚とおいしさのシグナリング. *化学と生物*, 45, 419~25, 2007.
- 7) Y A. Huang, Y. Maruyama, G. Dvoryanchikov, E. Pereira, N. Chaudhari, S.D. Roper, The role of pannexin 1 hemichannels in ATP release and cell-cell communication in mouse taste in mouse taste buds. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, 6436~6441, 2007.
- 8) W. Lin, T. E.Finger, B. C.Rossier, S. C.Kinnamon, Epithelial Na<sup>+</sup> channel subunits in rat taste cells: localization and regulation by aldosterone. *J Comp Neurol*, 405, 406~20, 1999.
- 9) A .Vandenbeuch, T. R. Clapp, S. C. Kinnamon, Amiloride-sensitive channels in type I fungiform taste cells in mouse. *BMC Neurosci*, 9, 1, 2008.
- 10) Y. Ishimaru, Y. Katano, K. Yamamoto, M. Akiba, T. Misaka, R. W. Roberts, T. Asakura, H.Matsunami, and K. Abe, Interaction between PKD1L3 and PKD2L1 through their transmembrane domains is required for localization of PKD2L1 at taste pores in taste cells of circumvallate and foliate papillae. *FASEB J*, 24, 4058~4067, 2010.

- 11) 中村友美, 柳川右千夫, 小幡邦彦, 渡辺正仁, 植野洋志, GABA is produced in taste bud. 日本味と匂学会誌, 13, 547~550, 2006.
- 12) 中村友美, 柳川右千夫, 小幡邦彦, 渡辺正仁, 植野洋志, 味蕾細胞におけるGABA合成—グルタミン酸の供給とGABAの利用. ビタミン, 82, 387~394, 2008.
- 13) YA. Huang, E. Pereira, SD. Roper, Acid Stimulation (Sour Taste) Elicits GABA and Serotonin Release from Mouse Taste Cells, Plos one, 6, 10, 1~8, 2011.
- 14) K.Akamatsu, Y. Nakamura, H. Hayasaki, K. Kanabara, K. Maemura, Y. Yanagawa, et al., Cells expressing GABA synthetic enzyme, glutamate decarboxylase, in stomach and intestine: RT-PCR and immunohistochemistry studies. J Biol Macromol, 7, 55~62, 2007.
- 15) M. Iwahori, K. Akamatsu, S. Kurohara, K. Yokoigawa, H. Ueno, H. Ogawa, H. Ozawa, M. Kawata, Immunohistochemical study of the localization of glutamate decarboxylase in rodent's submandibular gland. J Biol Macromol, 2, 76~77, 2002.
- 16) S. Kurohara, M. Asai, M. Hayashi, K. Yokoigawa, H. Ueno, Microanalysis of GABA: An application for evaluating GABA production in yeast strains and the effect of spice extracts on glutamate decarboxylase activity. J Biol Macromol, 1, 45~48, 2001.
- 17) 古川秀子, 呈味物質の定量的測定 おいしさを測る—食品官能試験の実際—, 幸書房, 東京, 1997.
- 18) 日本フードスペシャリスト協会 編, 食品の官能評価・鑑別演習, 建帛社, 2008.
- 19) 佐々木公子, 岩城知津, 植野洋志, GABA ( $\gamma$ -アミノ酪酸)の味覚への関与について. 美作大学・美作大学短期大学部紀要, 55, 65~70, 2010.
- 20) 佐々木公子, 渡辺春奈, 植野洋志, GABA ( $\gamma$ -アミノ酪酸)の味覚への関与について. ~酸味と塩味への関与~美作大学・美作大学短期大学部紀要, 56, 9~14, 2011.
- 21) K. Hisaki, K. Wada, K. Shinohara, Y. Nakamura, H. Ueno, Contribution of GABA to taste sensation evaluated by taste test and effect of compounds in spices on the activity of GABA synthetic enzyme. Jpn J Taste Smell Res, 14, 435~38, 2007.