

苦味受容機構とTAS2Rs発現量の関連

伊藤 隼

The Relationship between the Bitter Taste Reception and TAS2R Gene Expressions

Jun Ito

Objective : We examined the relationship between TAS2R gene expressions and salivary Histatin 5 concentration to examine the function of Histatin 5 in the mechanism of bitter taste reception.

Material and Methods : This study was subjected to 28 male healthy volunteers who had never smoked. After two hour fasting and rest, a taste sensitivity test and collection of tissue and saliva were performed in different schedules. Quinine was used as a bitter substance and the bitter taste sensitivity was determined according to sensitivity threshold of quinine using a filter-paper disk method. The tissue was collected from foliate papillae by scraping the mucosa and it was used to examine TAS2R (quinine receptor) gene expressions by RT-qPCR. The concentrations of parotid salivary Histatin 5 were quantified by ELISA.

Results : According to the results of bitter taste sensitivity test, the 28 subjects were classified into the normal (23 subjects) and the high threshold groups (5 subjects). Parotid salivary Histatin 5 level was significantly lower in the high threshold group. Among 9 the genes examined, the expression of TAS2R7 was significantly lower in the high threshold group (Mann-Whitney U-test).

Conclusion : The results suggest that TAS2R7 plays an important role in the bitter taste reception and that Histatin 5 promotes the binding of quinine to the bitter taste receptors.

Key words : bitter taste sensitivity of quinine, TAS2R gene expression, salivary Histatin 5

緒 言

ヒトには、体性感覚や内臓感覚といった様々な感覚（知覚）が存在する。その中でも味覚は特殊感覚（五感）の1つで、舌や咽頭などに存在する味蕾にある味細胞が味物質を受容し、そのシグナルは顔面神経、舌咽神経または迷走神経を介して、

延髄の孤束核、視床味覚中継核を経て、大脳皮質味覚野に伝達される。味覚は、甘味、酸味、塩味、苦味、旨味の5基本味で構成され、その中で苦味は不快な味とされている。口腔内には通常唾液が存在し、唾液中の粘液物質が味覚受容器の外部環境を形成していることから、味覚の感受性には唾液の量や質の変化が関連するとされている¹⁾。苦

受付：平成27年12月28日，受理：平成28年2月12日
奥羽大学大学院歯学研究科口腔機能回復学専攻
(指導：山森徹雄教授)

Department of Oral Rehabilitation, Ohu University
Graduate School of Dentistry
(Director : Prof. Tetsuo YAMAMORI)

味物質は多種多様に存在するが、疎水性であるという共通点を持ち、塩基性でかつ疎水性の大きな物質ほど強い苦味を呈するが²⁾、中でもキニーネは強い苦味を持つアルカロイドであり、トニックウォーターの添加物などで知られている。

Histatin は唾液にのみ検出されるヒスチジンに富むタンパク質である。最も主要な Histatin ファミリーメンバーは、遺伝子 *HTN1* にコードされる Histatin 1 と遺伝子 *HTN2* にコードされる Histatin 3 の 2 種類であり、主に耳下腺から分泌される³⁾。Histatin 5 は Histatin 3 の翻訳後修飾を受けたもので、*C. albicans* に対して強い抗真菌作用を示す⁴⁾。また、*P. gingivalis* などの口腔細菌に対する抗菌作用やマスト細胞からのヒスタミン遊離抑制作用など、口腔粘膜での侵襲に対するバリアとしての役割を担う。最近では Histatin が細胞遊走を促進することが明らかになり、口腔内で見られる迅速な創傷回復に貢献していることが示唆されている⁵⁾。これに加え、近年 Histatin が苦味の受容に関与していることが明らかにされている。馬場⁶⁾ はキニーネと関連する唾液タンパクとして Histatin 3, 5, 6 と Proline rich peptide PE の検出を、和田ら⁷⁾ は、Histatin 5 ペプチド含有溶液のプレリンスによりキニーネに対する味覚閾値が低下すること、Histatin 5 がキニーネと結合することを見出している。

苦味の受容体は、甘味や旨味と同様で、7 回膜貫通型の G タンパク質共役受容体 (GPCR) である。GPCR への刺激は $\alpha\beta\gamma$ 3 量体 G タンパクを、GTP 結合型 α サブユニットと $\beta\gamma$ 複合体とを分離することで、伝達を開始する。 α サブユニットには様々な種類があり幅広い組織分布を示すが、このうち味細胞では G_i に分類される $G_{\alpha_{\text{gust}}}$ が特異的に発現することが知られている⁸⁾。一般に $G_i\alpha$ はアデニル酸シクラーゼ抑制により、cAMP 濃度の低下を引き起こすことが知られている⁹⁾。味覚の受容体で GPCR に分類されるもののうち、N 末端側の細胞外領域が長いものを TAS1Rs、極端に短いものを TAS2Rs としている¹⁰⁾。甘味の受容体は TAS1R2 と TAS1R3 の組み合わせで、旨味の受容体は TAS1R1 と TAS1R3 の組み合わせで構成されている^{11,12)}。苦味の受容体としてはヒトで

は 25 種、マウスでは 35 種の TAS2Rs が存在することが知られている^{13,14)} が、その組み合わせについての詳細については不明点が多い。

本研究では、苦味感受性に対する Histatin 5 および苦味受容体発現量の関連を検討し、苦味受容機構の解明の一助とすることを目的とした。

材料と方法

1. 被験者

被験者は本学歯学部学生及び教職員のうち、全身および口腔内が健全な非喫煙者の中から成人男性 28 名 (平均年齢 25.7 ± 2.8 歳) を選択した。奥羽大学倫理審査委員会の承認 (承認番号 78 号) を受けたのち、被験者の承諾を得て、味覚感受性試験、舌表層組織片採取、唾液採取を行った。試験、採取を行うに当たり 2 時間前から飲食、激しい運動を禁止した。

2. 味覚感受性試験

味覚感受性試験としてろ紙ディスク法¹⁵⁾を採用し、その規定に従い次のように実施した。被験者に舌を軽く口外に出させて唇で固定させ、検査中はそのままの状態を維持させた。舌尖より 2 cm 離れた左右側の舌背側縁部 (鼓索神経支配領域)¹⁶⁾ に味覚検査用試薬テストディスク[®] (三和化学研究所, 東京) をおき、各被験者の認知閾値を調べた。テストディスクは予め塩酸キニーネ試験液に浸漬しておき検査に供した。使用した塩酸キニーネの濃度は 0.001%, 0.02%, 0.1%, 0.5%, 4% の 5 段階で、検査は低濃度から順に高濃度へと上昇させていき、左右側どちらかで認知された低濃度の方を認知濃度と判定した。

3. Histatin 5 濃度測定

Histatin 5 は耳下腺唾液中の濃度を測定し評価した。すなわち耳下腺唾液を酸味刺激下にて久保木式採唾器 (YK-I 型, 三東医科工業, 東京) を用いて約 1ml 採取し⁷⁾、 -80°C で保存した。Histatin 5 濃度測定は、Human Histatin 5 ELISA Kit[®] (CUSABIO, 中国) を用いてマニュアルに従い測定した。96 穴プレートのウェルにブランク、スタンダード、被験液 (耳下腺唾液) を各 $100 \mu\text{l}$ 分注し、 37°C で 2 時間保温後、液を捨て、ビオチン化抗ゴート抗体を各ウェルに $100 \mu\text{l}$ 分注し

表1 qPCRのための特異的ヌクレオチドプライマーの塩基配列

Gene	Accession No		Sequence 5'>3'	PCR Product (bp)
TAS2R4	NM_016944	sense	TCT GGA ATC CCC AGA CGG AA	97
		antisense	TGG ACC AGG GTA GCA ACT GA	
TAS2R7	NM_023919	sense	CTC CCC TTT TGT GTG TGC CT	122
		antisense	CTC ACA TGG GCT TCT GTG CT	
TAS2R10	NM_023921	sense	ACA CAG TCT GGG ATC TCA AC	180
		antisense	TGT TGG AGT CTC TCAATC CTG	
TAS2R14	NM_023922	sense	GCT ACA GGC CTC GGT ACT TTT	108
		antisense	CCG AAG TCA CAA GAA GCA G	
TAS2R31	NM_176885	sense	CAG TGT ACC TTT CAG ATG CGA C	71
		antisense	ACA TAG CAG GGT CAG AGT GAA G	
TAS2R39	NM_176881	sense	ACT CTG CGA TCC TGC AGAAAG	166
		antisense	GAT CCT GCC ACT TGT GGAAAC	
TAS2R40	NM_176882	sense	TTC TCA GGC TGT CAG TGT TG	308
		antisense	TTT GAT GGC CCC TAT GTG AG	
TAS2R43	NM_176884	sense	GCT CAA GAT TGC CAA TTT CTC C	232
		antisense	GTT TGC TAC CAT GGT TAC AGT C	
TAS2R46	NM_176887	sense	TGG TGA TAC TAT TGG GGC CT	152
		antisense	TGC TAG GAT GGT TAC CGT TG	
β -actin (ACTB)	NM_001101.3	sense	TGG CAC CCA GCA CAA TGA A	186
		antisense	CTA AGT CAT AGT CCG CCT AGA AGC A	

37°Cで1時間保温した。その後、洗浄液300 μ lで3回洗い、アビジン化ホースラディッシュペロキシダーゼを各100 μ l分注し、37°Cで1時間作用させた。続いて、洗浄液300 μ lで5回洗い、テトラメチルベンジジンを各90 μ l分注し、37°Cの暗室で15~30分間保温した。反応停止液を各50 μ l添加した後450nmの波長で吸光度を測定した。得られた結果から standard curve を作製し、耳下腺唾液中の Histatin 5濃度を算出した。

4. TAS2Rs 発現量測定

1) 全 RNA 抽出

被験者の葉状乳頭部を数回擦過し、舌表層部の組織を採取した¹⁷⁾。採取した組織に含まれる全 RNA は ISOGEN RNA 抽出キットにて精製した。すなわち、組織を0.8ml ISOGEN (NIPPON GENE, 東京)にて溶解し、0.2ml クロロホルムを加え遠心分離 (12000 \times g, 15分, 4°C)後に水層を分取した。これに3 μ lの共沈剤エタチンメイトと320 μ lのイソプロパノールを加え混和後、遠心分離 (12000 \times g, 15分, 4°C)により

沈渣 (全 RNA 画分) を得た。この全 RNA をさらに70%エタノール1mlで洗浄し、風乾燥した後、沈殿物を RNase フリー水に溶解し、total RNA 溶液とした。DNA 濃度は260nmの吸光度により測定し濃度を計算した。

2) 逆転写反応を用いる定量 PCR 法 (RT-qPCR)

逆転写反応は High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life technologies, USA) を用いて行った。すなわち、全 RNA 1.0 μ g/4.5 μ lを、RT Buffer Mix (2 \times) 5.0 μ l, RT Enzyme Mix (20 \times) 0.5 μ lを加えて全部で10 μ lとし、37°C, 60分で逆転写反応を行い、95.0°C, 5分で酵素を失活させ、その後急冷した。

qPCRは、逆転写反応産物5 μ lに2 \times SYBR® Premix Ex Taq™ II (Takara Bio, 東京)7.5 μ lとPCRプライマー (終濃度400nM) とを加えて合計15.0 μ lとし、TP870 (Takara Bio, 東京)で行った¹⁸⁾。PCRプライマーは、キニーネの受容体である TAS2R4, TAS2R7, TAS2R10, TAS2R14,

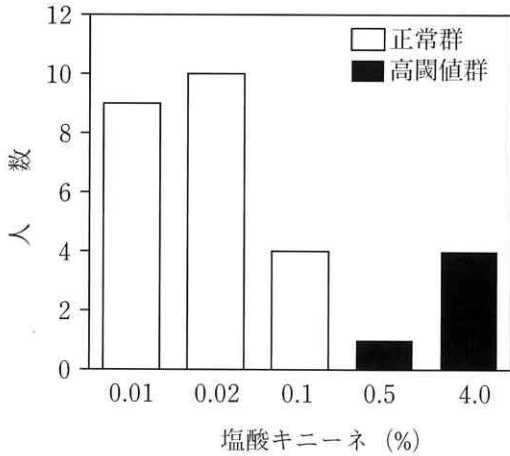


図1 キニーネの味覚感受性試験による閾値の人数分布
 認知濃度が0.001%~0.1%の被験者を正常群(23人),
 0.5%および4%を高閾値群(5人)とした。

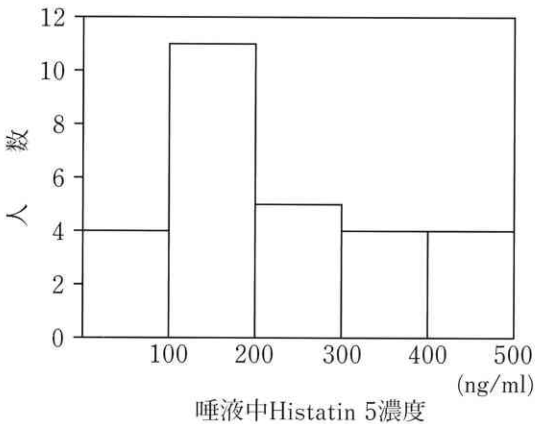


図2 唾液中Histatin 5濃度の人数分布 (n=28)
 耳下腺唾液中のHistatin5濃度はELISA法により定量した。100ng/ml未満は4人, 100~200ng/ml未満は11人, 200~300ng/ml未満は5人, 300~400ng/ml未満は4人, 400ng/ml以上は4人であった。

TAS2R31, TAS2R39, TAS2R40, TAS2R43, TAS2R46とした¹⁹⁾(表1)。得られた結果はβ-actin mRNA 受容体遺伝子 (ACTB) の相対発現量にて補正を行った。

5. 統計解析

得られたデータは各群内でスミルノフの棄却検定を行い, 2群間における差の検定には, Mann-Whitney U-testを用いた。有意水準を5%とした。統計処理には ystat2008 (医歯薬出

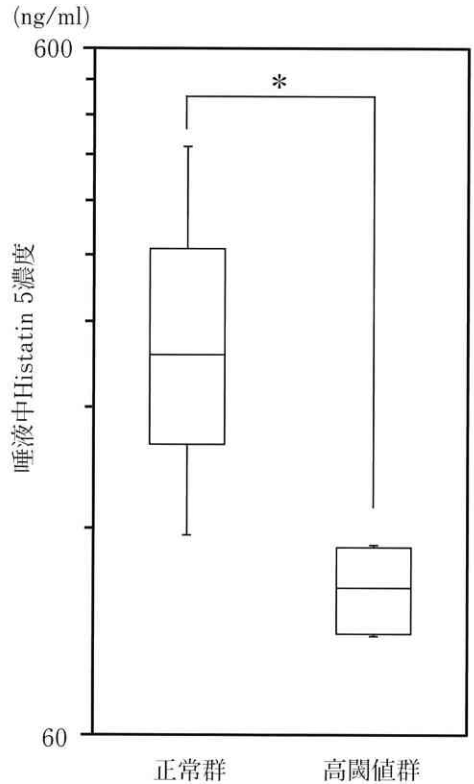


図3 正常群と高閾値群間における唾液中Histatin 5濃度の比較 (n=28)
 * : p<0.05, 高閾値群は正常群と比較してHistatin 5濃度が有意に低かった。

版株式会社, 東京)を用いた。

結果

1. 味覚感受性試験

ろ紙ディスク法による味覚感受性試験では, 認知濃度が0.02%となった被験者が10名と最も多く, 全体の43.5%であった。次いで0.001%が9名であった。Tomitaら¹⁶⁾に従い, 認知濃度0.001%~0.1%の被験者を正常群(23人, 82.1%)とし, 0.5%または4.0%の被験者を高閾値群(5人, 17.9%)とした(図1)。

2. 苦味感受性と唾液中 Histatin 5 濃度

図2に唾液中 Histatin 5濃度の人数分布を示す。100~200ng/mlで11人と最も多く, 平均値は227.4±23.8ng/mlであった。Histatin 5濃度は, 正常群に比較して高閾値群で有意に低かった(図

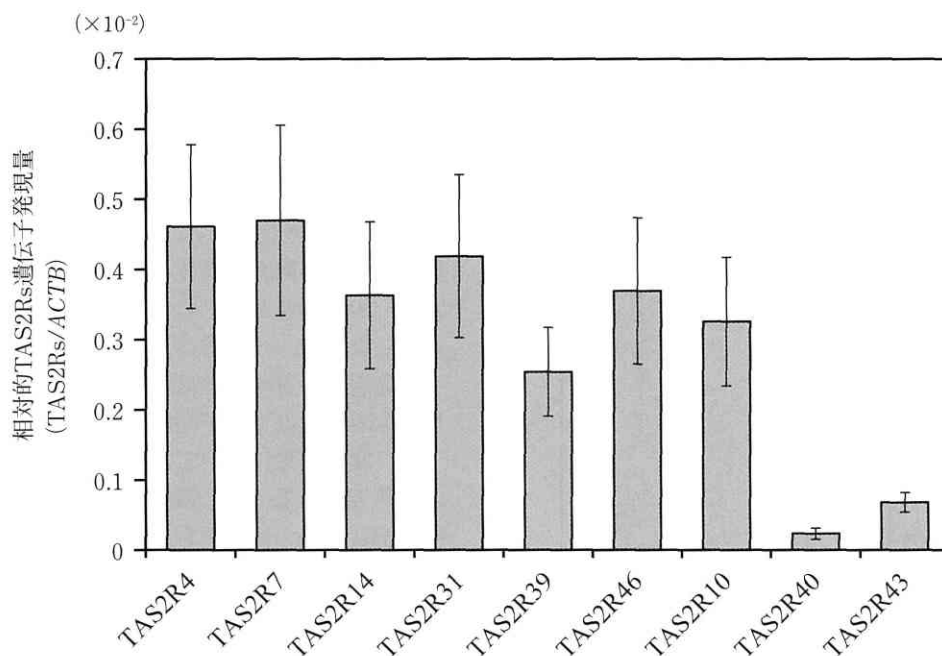


図4 RT-qPCRによる苦味受容体遺伝子TAS2Rsの発現量(β -actin発現量に対する相対値, $n=28$)
全被験者の各受容体における発現量の平均値とSE値を示す。

3)。

3. 苦味感受性と TAS2Rs 発現量

β -actin mRNA 受容体遺伝子の相対発現量の平均値は、TAS2R7遺伝子発現量が $4.7 \times 10^{-2} \pm 1.4 \times 10^{-2}$ と最も多く、最も少ないTAS2R40は $0.24 \times 10^{-2} \pm 0.08 \times 10^{-2}$ であった(図4)。また、各受容体遺伝子発現について正常群、高閾値群間で検定を行ったところ、TAS2R7では正常群に比較して高閾値群の発現量が有意に少なかった(図5)。他の受容体遺伝子では群間に有意な差は認められなかった。

考 察

1. 実験設定について

本研究を開始するのに際して実験のプロトコールを作成するために、まずHistatin 5濃度の日内変動を5名の被験者に対して調べた結果、変動を認めなかった(結果未掲載)。一方、味覚閾値は、低張時唾液の方が低下することが知られている²⁰⁾。浸透圧維持には、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- が主に関わる²¹⁾

が、唾液腺は交感神経と副交感神経に支配されるため唾液の組成は日内変動する²²⁾。そこで本研究では試料採取時間を昼食後2時間あけて行った。

呈味溶液を用いた味覚検査法には、全口腔法、滴下法、濾紙ディスク法などがある。和田ら⁷⁾は全口腔法による検査を実施し、Pfaffmann²³⁾らの平均値を基準に正常群と高閾値群に分類したが、本研究では濾紙ディスク法を採用した。舌背上に試験液に浸漬した濾紙ディスクを貼付する濾紙ディスク法では、唾液や唾液中の成分(イオン、アミノ酸、タンパク質など)^{24,25)}の影響を受けにくい^{15,26)}。濾紙ディスク法の使用法に則れば、試験溶液に浸漬した濾紙ディスクを舌尖部(鼓索神経支配領域)において検査を実施し、舌尖部の味覚が欠落しているときは舌後方部(舌咽神経支配領域)で測定を行うとされる¹⁶⁾。このような設定とした根拠としては、奥田²⁶⁾の報告が挙げられる。すなわち、甘味と塩味は部位による閾値の差は小さく、酸味と苦味では舌咽神経支配部位が鼓索神経支配部位

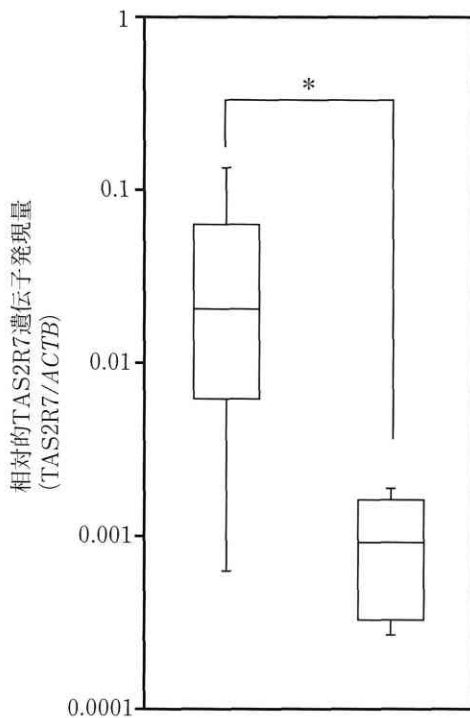


図5 正常群と高閾値群間でのTAS2R7遺伝子発現量の比較 (β -actin発現量に対する相対値, $n=28$)
* : $p < 0.05$, 高閾値群では正常群と比較して、TAS2R7遺伝子発現量が有意に少なかった。

より閾値が低いという一定の傾向がみられる。なかでも苦味の閾値は舌尖部と舌後方を比較すると、7割以上の被験者で同等あるいは舌後方で閾値が低いことから、舌尖部に濾紙ディスクを設置することで正確に味覚感受性を検査できると考えられる。なお、本研究での被験者は、重度味覚異常がない正常者であり、舌尖部の味覚が欠落している者はいなかったため、舌後方での検査は行わなかった。一方、TAS2Rsは本研究で示したように遺伝子発現量が非常に少ないため、比較的味蕾の多い葉状乳頭部より擦過を行った²⁷⁾。なお、濾紙ディスク法による検査部位と擦過部位が異なるため、和田ら⁷⁾の方法に準じて全口腔法による評価を高閾値群の被験者に対し実施したところ、全ての被験者が高閾値群に分類されることが確認された。

ヒトの苦味受容機構はマウスなどとは受容体の

種類なども異なるため^{13,14)}、本研究では全身および口腔内が健常なヒトを対象として行うことにした。このため、TAS2Rsの受容体発現量を直接決定することが困難であり、TAS2Rs遺伝子発現量の解析を行った。遺伝子発現量の増減は、mRNAの安定性²⁸⁾ (miRNA等の影響を含む) またはeIF-2のリン酸化やリボソームタンパク等による転写調節²⁹⁾の影響を受けるため、タンパク質(受容体)の発現量と必ずしも一致するとは限らない。しかしながら、一般的に、遺伝子発現量はタンパク質発現量と著明な差はないものと考えられるため、本研究では遺伝子発現量をパラメータとした。

2. 実験結果について

本研究の結果では、苦味感受性の高閾値群で唾液中Histatin 5濃度が有意に少なかったが、この結果はHistatin 5がキニーネと受容体の結合を促進している可能性を示すものである。Histatin 5はHistatin 3の誘導体であり、Histatin 6の前駆体としての機能も有する。すなわち、Histatin 5はHistatin 3とあるいはHistatin 6と共通したアミノ酸配列を有する。さらに、Histatin 6とは、僅かC末端の1アミノ残基しか差異がない^{6,30)}。馬場はキニーネと関連する唾液タンパクとしてHistatin 3, 5, 6とProline rich peptide PEを検出し⁸⁾、和田はこれらの中からHistatin 5がキニーネと結合し、Histatin 5ペプチド含有溶液のプレリンスによりキニーネに対する味覚閾値が低下すること⁷⁾を報告した。さらに、本研究に先立って、被験者の唾液中の各Histatin濃度について電気泳動により検討をおこなった結果、Histatin 5の濃度とHistatin 3またはHistatin 6の濃度に関連が認められなかった(結果未掲載)。したがって本研究では、唾液中のHistatin 5濃度をパラメータとして選択し味覚感受性との関連を検索することとした。

キニーネの受容体とされているTAS2Rs (TAS2R4, TAS2R7, TAS2R10, TAS2R14, TAS2R31, TAS2R39, TAS2R40, TAS2R43, TAS2R46)に関して、キニーネとの結合力は差が無いことが知られている³¹⁾。本研究において苦味閾値高閾値群では、TAS2R7遺伝子発現量が有意に減少していたことは、TAS2R7は苦味受容の

中心的な役割をしている可能性が示唆された。TAS2R7はキニーネの他にカフェインなどの苦味物質と結合することが知られている¹⁹⁾。

味覚受容機構のうち甘味や旨味については、受容体の構造解析が古くからおこなわれており³²⁾、TAS2Rと同様の細胞膜7回貫通型受容体であるTAS1Rファミリーが同定されている。このうち、甘味に関してはTAS1R2とTAS1R3が、旨味に関してはTAS1R1とTAS1R3がヘテロマーを形成し働くことが知られている^{11,12)}。このことから苦味に関しても、*in vivo*でTAS2Rsがホモマーかヘテロマーを形成し、その受容に関与する可能性は強い。Kuhn³³⁾らは*in vitro*の実験で、TAS2Rsが二量体を形成する際の親和性について検証を行った。その結果、いくつかのTAS2R間で高親和性分子が存在することを報告した。また、TAS2R7はTAS2R4を除くキニーネ受容体TAS2Rsと結合することが証明されている³³⁾。したがって、本研究ではキニーネによる苦味受容にTAS2R7が中心的な役割を担っていることが示されたが、それ以外のTAS2Rsもヘテロマーを形成するなどして関与している可能性がある。

結 論

味覚感受性試験にて被験者を正常群と高閾値群に分類し、Histatin 5濃度および受容体発現量を比較した。その結果、以下の結論を得た。

1. 唾液中Histatin 5濃度は、高閾値群では正常群に対して有意に低かった。
 2. 受容体発現量はTAS2R7のみ有意差を認め、高閾値群では正常群に対して有意に低かった。
- 以上のことから、キニーネによる苦味受容においてTAS2R7が重要な働きを担っており、またHistatin 5はキニーネの受容体への結合を促進すると考えられた。

本論文の一部は日本味と匂学会第48回大会（平成26年10月3日 静岡市）において、要旨は第58回奥羽大学歯学会（平成26年11月8日 郡山市）において発表した。

謝 辞

稿を終えるに際し、終始御懇篤なるご指導をいただきま

した奥羽大学歯学部歯科補綴学講座山森徹雄教授、清野和夫前教授ならびに奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座加藤靖正教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本研究にあたりご協力いただきました口腔機能分子生物学講座、歯科補綴学講座教員各員の皆様に深く感謝申し上げます。

本研究には開示すべき利益相反状態はない。

文 献

- 1) Witt, M. and Reutter, K. : Lectin histochemistry on mucous substances of the taste buds and adjacent epithelia of different vertebrates. *Histochem.* **88** ; 453-461 1988.
- 2) 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.
- 3) Sabatini, L. M., Ota, T. and Azen, E. A. : Nucleotide sequence analysis of the human salivary protein genes HIS1 and HIS2, and evolution of the STATH/HIS gene family. *Mol. Biol. Evol.* **10** ; 497-511 1993.
- 4) Oppenheim, F. G., Xu, T., McMillian, F. M., Levitz, S. M., Diamond, R. D., Offner, G. D. and Troxler, R. F. : Histatins, a novel family of histidine-rich proteins in human parotid secretion. *J. Biol. Chem.* **263** ; 7472-7477 1988.
- 5) Oudhoff, M. J., Bolscher, J. G., Nazmi, K., Kallay, H., van't, Hof, W., Amerongen, A. V. and Veerman, E. C. : Histatins are the major wound-closure stimulating factors in human saliva as identified in a cell culture assay. *FASEB J.* **22** ; 3805-3812 2008.
- 6) 馬場園子：苦味に関連する唾液中タンパク質の検出。奥羽大歯学誌 **30** ; 189-196 2003.
- 7) 和田裕一、山森徹雄：唾液中Histatin 5のキニーネ受容に対する効果。奥羽大歯学誌 **38** ; 115-122 2011.
- 8) Yasumatsu, K., Ohkuri, T., Sanematsu, K., Shigemura, N., Katsukawa, H., Sako, N. and Ninomiya, Y. : Genetically-increased taste cell population with G (alpha) -gustducin-coupled sweet receptors is associated with increase of gurmarin-sensitive taste nerve fibers in mice. *BMC Neurosci.* **10** ; 152 2009.
- 9) Birnbaumer, L. : Expansion of signal transduction by G proteins. The second 15 years or so : from 3 to 16 α subunits plus betagamma

- dimers. *Biochim. Biophys. Acta* **1768** ; 772-793 2007.
- 10) 重村憲徳, 大栗弾宏, 寶松敬介: 味覚センサーの分子進化と多様性. *細胞工学* **26** ; 890-893 2007.
 - 11) 石丸喜朗: 脊椎動物における味覚受容の分子基盤. *実験医学* **26** ; 522-528 2008.
 - 12) Zhao, G. Q., Zhang, Y., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Erlenbach, I., Ryba, N. J. and Zuker, C. S. : The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell* **115** ; 255-66 2003.
 - 13) Adler, E., Hoon, M. A., Mueller, K. L., Chandrashekar, J., Ryba, N. J. and Zuker, C. S. : A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* **100** ; 693-702 2000.
 - 14) Matsunami, H., Montmayeur, J. P. and Buck, L. B. : A family of candidate taste receptors in human and mouse. *Nature* **404** ; 601-604 2000.
 - 15) Tomita H., Ikeda M. and Okuda Y. : Basis and practice of clinical taste examinations. *Auris Nasus Larynx* **13** ; S1-15 1986.
 - 16) 富田 寛: 実践的味覚検査法. 実戦的耳鼻咽喉科検査法 (小林俊光, 高橋晴雄, 浦野正美編) ; 196-205 中山書店 東京 2012.
 - 17) Onoda, K., Hirai, R., Takao, K., Kokubun, S. and Ikeda, M. : Patient with hypogeusia show changes in expression of T2R taste receptor genes in their tongues. *Laryngoscope* **121** ; 2592-2597 2011.
 - 18) Maeda, T. and Horiuchi, N. : Simvastatin suppresses leptin expression in 3T3-L1 adipocytes via activation of the cyclic AMP-PKA pathway induced by inhibition of protein prenylation. *J. Biochem.* **145** ; 771-781 2009.
 - 19) Meyerhof, W., Batram, C., Kuhn, C., Brockhoff, A., Chudoba, E., Bufe, B., Appendino, G. and Behrens, M. : The molecular receptive ranges of human TAS2R bitter taste receptors. *Chem. Senses* **35** ; 157-170 2010.
 - 20) 渡部 茂: 唾液と味覚. 唾液 (渡部 茂監) ; 43-45 医歯薬出版 東京 1997.
 - 21) Dawes, C. : Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *J. Dent. Res.* **66** ; 648-653 1987.
 - 22) Dawes, C. : Rhythms in salivary flow rate and composition. *Int. J. Chronobiol.* **2** ; 253-279 1974.
 - 23) Pfaffmann, C., Bartoshuk, L. M. and McBurney, D. H. : Taste psychophysics. In *Handbook of sensory physiology IV chemical senses 2 taste* (Ed., Beidler, L. M.) ; 75-101 Springer-Verlag Berlin 1971.
 - 24) Bartoshuk, L. M. : The psychophysics of taste. *Am. J. Clin. Nutr.* **31** ; 1068-1077 1978.
 - 25) McBurney, Donald, H. and Pfaffmann, Carl. : Gustatory adaptation to saliva and sodium chloride. *J. Exp. Psych.* **65** ; 523-529 1963.
 - 26) 奥田雪雄: 濾紙ディスクによる味覚検査法. *日耳鼻* **83** ; 1071-1082 1980.
 - 27) Mistretta, C. M. : Anatomy and neurophysiology of the taste system in aged animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **561** ; 277-290 1989.
 - 28) Maeda, T., Kawane, T. and Horiuchi, N. : Statins augment vascular endothelial growth factor expression in osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. *Endocrinology* **144** ; 681-692 2003.
 - 29) Miyoshi, M., Okajima, T., Matsuda, T., Fukuda, M. N. and Nadano, D. : Bystin in human cancer cells intracellular localization and function in ribosome biogenesis. *Biochem. J.* **404** ; 373-381 2007.
 - 30) Troxler, R. F., Offner, G. D., Xu, T., Vanderspek, J. C. and Oppenheim, F. G. : Structural relationship between human salivary histatins. *J. Dent. Res.* **69** ; 2-6 1990.
 - 31) Grassin-Delyle, S., Abrial, C., Fayad-Kobeissi, S., Brollo, M., Faisy, C., Alvarez, J. C., Naline, E. and Devillier, P. : The expression and relaxant effect of bitter tastereceptors in human bronchi. *Respiratory Res.* **14** ; 134 2013.
 - 32) Mueller, K. L., Hoon, M. A., Erlenbach, I., Chandrashekar, J., Zuker, C. S. and Ryba, N. J. : The receptors and coding logic for bitter taste. *Nature* **434** ; 225-229 2005.
 - 33) Kuhn, C., Bufe, B., Batram, C. and Meyerhof, W. : Oligomerization of TAS2R bitter taste receptors. *Chem. Senses* **35** ; 395-406 2010.
- 著者への連絡先: 伊藤 隼, (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部歯科補綴学講座
 Reprint requests : Jun ITO, Department of Prosthetic Dentistry, Ohu University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan