

令和元年6月19日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H05242

研究課題名(和文) 霊長類採食活動多様性の感覚的基盤

研究課題名(英文) Molecular Basis of Primate Feeding Behaviors

研究代表者

今井 啓雄 (Imai, Hiroo)

京都大学・霊長類研究所・教授

研究者番号：60314176

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：動物が採食活動を行う際、視覚・嗅覚・味覚等の感覚を頼りにして採食品目の選択を行う。そのため、これらの感覚受容体の特性を知ることが、採食戦略の分子基盤を解明する一つの手がかりとなる。本研究では、世界各地の霊長類の視覚・嗅覚・味覚等の感覚を分子レベルから生態レベルまで比較検討することにより、採食活動に対する感覚の重要性を検討した。その結果、各地の霊長類は多様な感覚を持っていることが示され、単独または複数の感覚を採食の際に利用していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトを含む霊長類は様々な食性を示すが、その分子メカニズムはあまりよくわかっていませんでした。本研究では、視覚・嗅覚・味覚等の感覚に注目することにより、食物を選択する際にどのような感覚を主に使っているのか記述することに成功しました。例えば、アジアの葉食ザルは苦味や甘味の感覚が減弱していることがわかったため、食べ物を選ぶ際にはこれら以外の感覚を手がかりにしていることが示唆されました。また、中南米のサルの長期観察等により、味覚以外にも視覚や嗅覚を組み合わせることで果実等を選んでいることが示されました。ヒトの食物について考える際に、こうした進化的な背景も考慮する必要があるかも知れません。

研究成果の概要(英文)：Animals use the sense of taste, olfaction, and vision for selecting the foods in specific environments. We focused on these senses for elucidating the molecular mechanisms underlying in the feeding behaviors of various primates. As results, we found various types of responses in taste receptors as related to their feeding behaviors. The animals use the senses simply or as combination, for the selection of their specific food items.

研究分野：分子生物学

キーワード：味覚 嗅覚 視覚

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

動物が採食活動を行う際、視覚・嗅覚・味覚等の感覚を頼りにして採食品目の選択を行う。そのため、これらの感覚受容体の特性を知ることが、採食戦略の分子基盤を解明する一つの手がかりとなる。しかし、個々の感覚受容体の特徴は判明してきたものの、それと動物の生態、特に採食活動を結んだ研究は未だ数少ない。視覚に関しては、哺乳類は基本的に2種類の色覚受容体しか持たない2色型色覚なのに対し、霊長類は赤-緑オプシン(X染色体性)の遺伝子重複(狭鼻猿類[ヒト、類人猿、旧世界ザル類]と新世界ザルのホエザル)あるいは対立遺伝子多型化(大部分の新世界ザルと一部の原猿類)により吸収波長の異なる2種類の赤-緑オプシンを保有している。これによりヒトを含む大部分の霊長類は3色型色覚を有している個体を種内に保持している。一方で、2色型の色覚を有する個体も存在し、「カモフラージュ効果」等の2色性に有利な表現型も報告されている。

我々は何種かの霊長類遺伝子多型解析の結果、色覚・嗅覚・苦味受容体に多くの遺伝子多型を発見したため、この遺伝子多様性すなわち感覚受容体の多様な性質が、多様な採食行動の分子基盤となっている仮説を考えている。実際に、ヒト、チンパンジー、ニホンザル、中国のラングール、中南米のマーモセットが共通に持つ苦味受容体の機能をタンパク質レベルで比較検討した結果、それぞれの種特異的な天然植物成分に対する反応パターンが見られ、個体を用いた行動実験により確認することができた。すなわち、苦味受容体のアミノ酸配列の組み合わせにより天然生理活性物質に対して様々な種特異的な反応を示すことが示唆された(Imai et al., *Biology Lett.* 2012)。

また、一方で種内でも特異な遺伝子型(一塩基多型 SNP、遺伝子数変異 CNV)を持つ個体の同定を、世界に先駆けて行っている。まず、視覚については三上・今井らは色覚オプシンを2種類しか持たない2色型カニクイザルをインドネシア・パンガンダラン地区で同定していた(Onishi et al. *Nature* 1999)。河村らはコスタリカ・グアナカステ自然保護区サンタロサ国立公園地区を中心として2色性と3色性の個体識別をした上で採食活動を詳細に検討してきた。また、味覚については今井らが一部苦味受容体を欠損したニホンザルを発見した他に、チンパンジーについても多くの地域特異的な変異を同定した。これらの個体はいずれも野生下で特異な遺伝子型を保持してきているため、新たな視点として報道等で注目を集めるとともに、生態環境、特に採食活動との感覚統合的な関連や進化的な背景が次の課題として浮かび上がった。

### 2. 研究の目的

前述のような前回の海外学術調査(課題番号 24405018)の結果を地域特異的な現象ととらえるのか、普遍的な現象ととらえるのかは、地域間比較をすることによって解明できると考え、さらに調査地域を拡大して比較検討する計画を立案した。遺伝子型と表現型の比較をアジア・アフリカ・そして中南米で展開することにより、それぞれの地域での遺伝子変異と進化、そして生息環境への適応機構を探ることを目的として以下の計画を実施した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 霊長類種・個体ごとの採食品目の確認と微量成分分析・分光分析

(1-1) インドネシア・パンガンダラン地区のカニクイザル・ジャワルトンについては分担者の辻を中心に採食品目の決定と採集、フンサンプルの採集と分析を実行した。

(1-2) ブラジルの新世界ザル類について、今井と筒井を中心に研究を行った。マーモセット類の特異的な採食品目である樹液を中心に採取・分析した。

(1-3) コスタリカ・グアナカステ自然保護区サンタロサ地区の新世界ザルについて、カルガリ大学等のグループと河村らにより採食品目の同定と分光分析を実施した。

#### (2) 霊長類種・個体ごとの行動実験

これまで二つの刺激を選ぶ選択法を用いた行動実験により、ニホンザルの苦味(サリシン)や甘味(ショ糖)・うま味などの評価系を作成することに成功している。そこで、この実験をアカゲザルやコロブス類に対して、天然の苦味物質や糖類を用いて実施した。

#### (3) 霊長類種・個体ごとの感覚受容体遺伝子の分析とその機能の解析

各調査地から集めたフン試料から DNA を抽出し、サル個体と採食植物についての DNA 分析を行った。色覚受容体や味覚受容体の遺伝子を増幅し、シークエンスにより各個体の DNA 配列を決定した。得られた配列は発現ベクターにクローニングし、順次機能解析を色覚受容体については分光学的方法で、味覚受容体はカルシウムイメージング法により実施した。

### 4. 研究成果

#### (1) 霊長類種・個体ごとの採食品目の確認と微量成分分析・分光分析

三上、辻、今井らはインドネシア・ジャワ島・パンガンダラン地区でカニクイザルおよびルトンのフィールド調査を実施した。辻はジャワ島のジャワルトンとスマトラ島のシルバールトンのアクティビティと食性を異なる性・年齢クラスで比較し、国際シンポジウムで報告した(5th Asian Primate Symposium 2016)。

また、河村らはコスタリカ・サンタロサ国立公園において、ノドジロオマキザルの採食果実

の匂い捕集、分光計測、硬度測定を行った。その結果 3 色型色覚は 2 色型色覚より顕色系果実に対する時間当たり採食果実数が有意に多いことを野生霊長類で初めて示した (Melin et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 2017)。一方、この優越性は若年期に限定され、成長につれて差は解消されることも示した。これは成長につれて 2 色型が明度視や嗅覚など色覚以外の感覚に習熟していくためと考察した。また、味覚と嗅覚の相互作用について知見を得ることができた (Melin et al., Nature Commun. 2019)。

#### (2) 霊長類種・個体ごとの行動実験

コロボス類の味覚行動実験を実施した結果、苦味物質 PTC に対しては、ほとんどすべての個体が PTC を区別できないことがわかった (Purba et al., Biology Letters 2017)。また、糖類に対しても反応がほとんどないことがわかった (Nishi et al., Primates 2018)。この結果は、マカク類における結果 (Hashido et al., PLoS One 2015; Nishi et al., Sci. Rep. 2016) とは対照的であり、葉食との関連が示唆された。三上らはインドネシア・ジャワ島・パンガンダランの色盲遺伝子キャリアのメスザルで 4 色型色覚の有意性について確認し論文とした (Widayati et al., I-perception 2019)。

#### (3) 霊長類種・個体ごとの感覚受容体遺伝子の分析

新世界ザル 6 種 (フサオマキザル、セマダラタマリン、アザレヨザル、チュウベイクモザル、マントホエザル、ダスキーティティ) 各 1 個体ずつの高純度ゲノム DNA に対して、嗅覚受容体、苦味受容体、旨味・甘味受容体、色覚オプシンの全遺伝子及び中立対照領域を対象として、target capture と次世代シーケンシング (NGS) を行った。ノドジロオマキザルとチュウベイクモザルの糞 DNA 試料集団試料に対して、一部の苦味受容体と嗅覚受容体を対象に、PCR とサンガーシーケンシングを行った。TAS2R1,4 に対しての機能解析の結果、種ごとに異なる反応性を示すことがわかった (Tsutsui et al., 2016)。さらに、マダガスカル kitsuneザル類についてインバースアゴニストを発見し、その獲得の進化的背景を明らかにした (Itoigawa et al., Proc. Royal Soc B 2019)。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 17 件)

- A. Itoigawa, T. Hayakawa, N. Suzuki-Hashido, \*H. Imai (2019) A natural point mutation in the bitter taste receptor TAS2R16 causes inverse agonism of arbutin in lemur gustation. Proc. R. Soc. B 286, 20190884. 査読有 doi: <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0884>
- \*A. D. Melin, O. Nevo, M. Shirasu, R. E. Williamson, E. C. Garrett, M. Endo, K. Sakurai, Y. Matsushita, K. Touhara & \*S. Kawamura (2019) Fruit scent and observer colour vision shape food-selection strategies in wild capuchin monkeys Nature Communications 10, 2407 査読有 doi: 10.1038/s41467-019-10250-9
- K.A. Widayati, A. Saito, B. Suryobroto, A. Mikami, K. Koida (2019) Color Perception in Protanomalous Female Macaca fascicularis i-Perception in press. 査読有 doi: <https://doi.org/10.1177/2041669519846136>
- S.W.Z. Asri, K.A. Widayati., Y. Tsuji (2019) Age-sex differences in the daily activity and diet of West Javan langur Trachypithecus mauritius in the Pangandaran Nature Reserve, West Java, Indonesia: a preliminary report. Asian Prim. J. 8, 3-13 査読有
- E. Nishi, N. Suzuki-Hashido, T. Hayakawa, Y. Tsuji, B. Suryobroto, \*H. Imai (2018) Functional decline of sweet taste sensitivity of colobine monkeys. Primates 59, 523-530. 査読有 doi: 10.1007/s10329-018-0679-2.
- \*T. Hayakawa, SKSS. Nathan, DJ. Stark, DAR. Saldivar, R. Sipangkui, B. Goossens, A. Tuuga, M. Clauss, A. Sawada, S. Fukuda, H. Imai, \*I. Matsuda (2018) First report of foregut microbial community in proboscis monkeys: are diverse forests a reservoir for diverse microbiomes? Environ. Microbiol. Rep. 10, 655 - 662. 査読有 doi: 10.1111/1758-2229.12677.
- K. Katayama, Y. Furutani, M. Iwaki, T. Fukuda, H. Imai, \*H. Kandori (2018) "In situ" observation of the role of chloride ion binding to monkey green sensitive visual pigment by ATR-FTIR spectroscopy. Phys. Chem. Chem. Phys. 20, 3381-3387. 査読有 doi: 10.1039/c7cp07277e.
- K. Katayama, Y. Nonaka, K. Tsutsui, H. Imai, \*H. Kandori. (2017) Spectral Tuning Mechanism of Primate Blue-Sensitive Visual Pigment Elucidated by FTIR Spectroscopy. Sci. Rep 7, 4904. 査読有 doi: 10.1038/s41598-017-05177-4.
- L. H. P. Purba, K. A. Widayati, K. Tsutsui, N. Suzuki-Hashido, T. Hayakawa, S. Nila, B.

Suryobroto, \*H. Imai. (2017). Functional characterization of the TAS2R38 bitter taste receptor for phenylthiocarbamide in colobine monkeys. *Biology Letters* 13, 20160834. 査読有 10.1098/rsbl.2016.0834

E. Nishi, K. Tsutsui, and \*H. Imai (2016) High maltose sensitivity of sweet taste receptors in the Japanese macaque (*Macaca fuscata*) *Sci. Rep* 6, 39352. 査読有 10.1038/srep39352

K. Tsutsui, M. Otoh, K. Sakurai, N. Suzuki-Hashido, T. Hayakawa, T. Misaka, Y. Ishimaru, F. Aureli, A. D. Melin, \*S. Kawamura, \*H. Imai. (2016) Variation in ligand responses of the bitter taste receptors TAS2R1 and TAS2R4 among New World monkeys. *BMC Evolutionary Biology* 16, 208. 査読有 10.1186/s12862-016-0783-0

\*H. Imai, N. Suzuki-Hashido, Y. Ishimaru, T. Sakurai, L. Yin, W. Pan, M. Ishiguro, K. Masuda, K. Abe, T. Misaka, and H. Hirai (2016) Amino acid residues of bitter taste receptor TAS2R16 that determine sensitivity in primates to  $\beta$ -glycosides. *Biophysics and Physicobiology* 13, 165-171. 査読有 DOI: 10.2142/biophysico.13.0\_165

今井啓雄 (2016) サルの味覚を追ってフィールドに. *フィールドプラス*, 15, 22-23.

今井啓雄、西栄美子 (2016) 味覚受容体タンパク質の進化と多様性. *生物科学*, 67, 2, 75-84.

N. Suzuki-Hashido, T. Hayakawa, A. Matsui, Y. Go, Y. Ishimaru, T. Misaka, K. Abe, H. Hirai, Y. Satta, and \*H. Imai. (2015) Rapid expansion of phenylthiocarbamide non-tasters among Japanese macaques. *PLoS ONE* 10, e0132016. 査読有 10.1371/journal.pone.0132016

K. Katayama, T. Okitsu, H. Imai, A. Wada, \*H. Kandori (2015) Identical Hydrogen-Bonding Strength of the Retinal Schiff Base between Primate Green- and Red-Sensitive Pigments: New Insight into Color Tuning Mechanism. *J Phys Chem Lett.* 6, 1130-1133. 査読有 doi: 10.1021/acs.jpcllett.5b00291.

筒井圭、今井啓雄 (2015) 霊長類苦味受容体の機能的多様性. *比較生理生化学*, 32, 24-29.

[学会発表](計 27 件)

Misa Hayashi The expression of taste-related molecules and the distribution of tuft cell in the intestine of Common marmoset. 第 8 回マーモセット研究大会 2019/2/6-7

Hiroo Imai. Functional diversification of primate taste receptors. 第 17 回国際シンポジウム味覚嗅覚の分子神経機構 2018/12/02

Misa Hayashi The expression of taste related molecules and the distribution of tuft cell in the intestine of Primates. 日本比較生理生化学会第 40 回神戸大会 2018/11/23

今井啓雄. 霊長類における食嗜好性の分子基盤. 第 41 回日本分子生物学会ワークショップ「食欲・食嗜好の分子・神経基盤」2018/11/29

Misa Hayashi The expression of taste-related molecules in the intestine of Common marmoset. 日本味と匂学会第 52 回大会 2018/10/29-31

Xiaochan Yan. Characterization of bitter taste sensitivity of four species of Sulawesi Macaques, The 5<sup>th</sup> Asian Primate symposium 2018/10/19-23

今井啓雄. 霊長類味覚受容体の機能多様性. 第 56 回日本生物物理学会年会シンポジウム「化学感覚の新コンセプト」2018/9/17

糸井川壯大 有胎盤類における苦味受容体 TAS2R16 の機能進化. 日本進化学会第 20 回大会 2018/08/23

Xiaochan Yan Characterization of bitter taste sensitivity of the two species of Sulawesi Macaques, The 27<sup>th</sup> International Primatological Society conference, Kenya, Africa, 2018/8/19-25

Hiroo Imai “Functional and Behavioral Analysis of Primate Taste Receptors” Plenary lecture in the 59<sup>th</sup> annual meeting and international symposium of Korean society of life science 2018/8/9

今井啓雄. 霊長類の味覚 味覚に関わる遺伝子とその多様性. 第34回日本霊長類学会大会公開シンポジウム. 2018/7/15

Xiaochan Yan Characterization of bitter taste sensitivity of four species of Sulawesi Macaques, The 34<sup>th</sup> congress of Primate Society of Japan, Tokyo, 2018/7/13-15

糸井川壯大 キツネザル類における苦味受容体 TAS2R16 の曲鼻猿類特異的変異による機能変化. 第 34 回日本霊長類学会大会. 東京. 2018/07/14

Akihiro Itoigawa Bitter taste receptor function in lemurs provides insight into the evolution of  $\beta$ -glycoside sensing mechanism in primates. Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution 2018 (SMBE2018). 2018/07/08-12

Hiroo Imai Gain and loss of functions in the taste receptors of primates. Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution 2018 (SMBE2018). 2018/07/11

今井啓雄 霊長類の食嗜好と味覚受容体. 生理研研究会「第3回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会」2018/6/2

西栄美子 葉食性霊長類(コロボス亜科)における甘味受容体の機能解析. 日本味と匂学会第 51 回大会. 2017/9/25-27.

- 糸井川壮大 キツネザル類における苦味受容体 TAS2R16 の グリコシド受容の多様性. 日本味と匂学会第 51 回大会 2017/9/25-27.  
仲井理沙子 チンパンジー iPS 細胞を用いた神経幹細胞の分化誘導と発生動態の解明. 日本進化学会第 19 回大会. 2017/8/26.  
糸井川壮大 キツネザル類における苦味受容体 TAS2R16 の遺伝的・機能的多様性. 第 33 回日本霊長類学会大会..2017/7/15
- 21 鈴木-橋戸南美旧世界ザルの苦味受容体遺伝子の適応的進化. 第 33 回日本霊長類学会大会.. 2017/7/15
  - 22 Hiroo Imai Functional evolution of primate taste receptors. In symposium “Learning from Sensory Molecules: Impact on Physiology and Evolution” The joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th Meeting of the Zoological Society of Japan. 2016/11/18.
  - 23 Akichika Mikami Simulation of the color vision of dichromatic Macaques in Pangandaran, Indonesia, 5th Asian Primate Symposium 2016, 2016/10/20
  - 24 Nami Suzuki-Hashido. Rapid expansion of phenylthiocarbamide (PTC) non-tasters among Japanese macaques. 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016). 2016/6/5-9.
  - 25 Emiko Nishi Comparison of sweet taste sensitivity between Japanese monkey and human. 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016). 2016/6/5-9.
  - 26 今井啓雄 ヒトとニホンザルにおける甘味感受性と甘味受容体機能の比較. 第49回日本味と匂学会大会.2015/9/24.
  - 27 西栄美子行動実験と分子実験によるヒトとニホンザルの甘味感受性比較. 第 31 回日本霊長類学会大会. 2015/7/18.

〔図書〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名： 河村 正二

ローマ字氏名：(Kawamura, Shoji)

所属研究機関名：東京大学

部局名：新領域創成科学研究科

職名：教授

研究者番号(8桁): 40282727

研究分担者氏名： 三上 章允

ローマ字氏名：(MIKAMI, Akichika)

所属研究機関名：中部学院大学

部局名：看護リハビリテーション学部

職名：教授

研究者番号(8桁): 40027503

研究分担者氏名： 辻 大和

ローマ字氏名：(TSUJI, Yamato)

所属研究機関名：京都大学

部局名：霊長類研究所

職名：助教

研究者番号(8桁): 70533595

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。