

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06485

研究課題名(和文) 味細胞と腸管内分泌細胞に共通する甘味受容メカニズムに関する研究

研究課題名(英文) The mechanism of sweet taste perception in taste cells and enteroendocrine cells

研究代表者

高井 信吾 (Takai, Shingo)

九州大学・歯学研究院・助教

研究者番号：30760475

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、腸管や膵臓に存在するインスリン分泌ホルモンGIPの受容体(GIPR)の mRNA がマウス味細胞にも発現していることを発見した。GIPR発現細胞の約7割は甘味受容体サブセットT1R3を共発現していた。また、米国モネル化学感覚研究所に滞在し、新たな味細胞幹細胞培養系「Taste Organoid」を学び、これを帰国後所属研究室でも立ち上げた。マウス有郭乳頭基部より採取した幹細胞をマトリゲルを含む培地で培養すると、味細胞へと分化した。この時培地中にインスリンを加えると、濃度依存的に各種味細胞マーカー mRNA 量が増加したことから、インスリンが味細胞の分化/増殖に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, I found the mRNA expression of glucose-dependent insulintropic polypeptide receptor (GIPR), which was originally identified in gut or pancreas, in mouse taste tissue. Around 70% of GIPR positive taste cells were shown to be expressed with T1R3, sweet-taste receptor subset in mouse taste buds. Additionally, I visited Monell Chemicelsenses Center in the U.S. and learned about newly invented 3-D taste stem cell culture 'taste organoid' and create that system also in Japan. In this system, taste stem cells are cultured in the medium with Matrigel and they differentiated to taste cells. The mRNA expression levels of several taste cell markers were increased in an insulin concentration dependent manner in medium. Thus insulin signal may influence the cell growth or proliferation in peripheral taste organs.

研究分野：生理学

キーワード：味覚 ホルモン

### 1. 研究開始当初の背景

甘味受容体は口腔内だけでなく膵臓や腸管にも発現しており、インスリン、また様々な消化管ホルモン分泌の調節に関与していると言われていた。また一方では、元々は消化管で発見されたホルモンやそのレセプターが味覚器にも発現しているという報告が相次いで為されている。この点に関して、研究代表者が所属する研究室では、腸管に発現するインスリン分泌ホルモンである GLP-1 が、末梢味覚器において甘味特異的な情報伝達物質として働いていることを示唆する結果を報告した (Takai et al., *FASEB* 2015)。しかし、味蕾に発現する消化管ホルモンに関しては、未だ研究は発展途上であり、他にも様々なホルモンやそのレセプターが発現し、色々な働きを持っていると予想されるがその詳細はわかっておらず、その解明は急務となっている。

### 2. 研究の目的

本研究では、GLP-1 同様、腸管に発現するインスリン分泌ホルモンである GIP、またインスリンそのものや甘味受容体、またグルコースの受容に関わる各種輸送体に着目し、その末梢味覚器における分子発現や生理機能、特に味覚との関わりを探索した。GIP は腸管内分泌細胞より甘味を含む様々な栄養刺激 (アミノ酸や脂肪) で分泌が促されることが知られている。またインスリンは膵臓細胞よりグルコース依存的に分泌される。どちらの分泌メカニズムにも、舌上と同じ甘味受容体サブセット T1R3 や、各種糖輸送体の関与を示唆する報告がある。消化管と口腔に共通する甘味受容機構と、生理活性分子の機能を解明することは、我々の栄養吸収/代謝メカニズムを理解する上で極めて重要である。

### 3. 研究の方法

マウス鼓索神経を麻酔下で剖出し、神経伝達物質候補を大腿静脈からマイクロポンプ

にて直接投与して神経に到達させ、その反応を電気生理学的に記録する技術を用いて GLP-1 と既知の味覚伝達物質として報告されている ATP との関連を調べた。実験には、野生型マウスと当研究室で保有する ATP のレセプター KO マウス (P2X2/X3 double-KO マウス) を用いた。

マウスの味覚組織 (舌有郭乳頭、茸状乳頭) を用い、RT-PCR で GIP やそのレセプター (GIPR)、またインスリンとそのレセプター (IR)、さらに甘味受容体や各種糖輸送体 (SGLT1、GLUT2,4,8,9) KATP チャネルの遺伝子発現を検証した。

免疫組織学的手法を用い、上述の GIP、インスリン関連分子のマウス味細胞における発現分布を探索した。

さらに平成 27 年度に、「頭脳循環を活性化する若手研究者海外派遣プログラム」の一環として米国モネル化学感覚研究所に約 1 年間出向した。当地では、Dr. Robert F. Margolskee 研に所属し、世界でも Monell 研究所のみが有する、新規に開発された味細胞幹細胞 3 次元培養系「taste organoid」をその開発者である Dr. Peihua Jiang に学んだ。Taste Organoid は単離した幹細胞を、マトリゲルを含む培地で 3 次元的に器官培養を行う最新の技術である。培養を始めてから 1~2 週間で幹細胞は味細胞へと分化し、コロニー中に姿を現す。この味細胞は、生体の味蕾に含まれる味細胞同様、種々の味覚受容体や味応答にかかわる細胞内シグナリング分子を保有していることが報告されている。

従来試みられてきたような、マウスから成熟味細胞を取り出し、培養する方法では、単離後数時間で味細胞は死滅してしまう。一方、単一の幹細胞から成長する taste organoid では、比較的長期間 (1 ヶ月以上) の培養が容易に可能であるため、味細胞の分化から増殖の過程を経時的に追うことが出来る点が最大のメリットである。また、taste organoid

はガン化した培養細胞株と異なり、生体の味細胞に近い形態、生理学的性質をある程度維持していると考えられるため、より生体に近い状態での機能探索が可能となる。帰国後この実験系を現在所属する研究室でも立ち上げることに成功し、これをインスリンの味細胞の分化増殖に関わる機能解析実験に用いた。

#### 4. 研究成果

過去に筆者が所属するグループは、インスリン分泌ホルモンである GLP-1 が、マウスにおいて甘味特異的な情報伝達物質として働いている可能性を提示した。一方、既知の味覚情報の伝達物質として知られる ATP と GLP-1 の関連は不明である。ATP の受容体欠損マウス (P2X2/X3 double-KO マウス) では、全ての味物質に対する味神経応答が消失することが報告されている。今回、この KO マウスを用いて GLP-1 の機能を調査したところ、KO マウス味神経にも GLP-1 のレセプターが発現していること、また、P2X2/X3 double-KO マウスに大腿静脈より GLP-1 を血中投与すると、弱いながらも味神経の活性化が見られたことから、GLP-1 による甘味情報伝達系と、ATP による味情報伝達系は独立している可能性が示唆された。

また、GLP-1 同様に腸管内分泌細胞から分泌されるホルモンである GIP の、マウス末梢味覚器における発現を調査した。その結果、GIP 自体の mRNA はマウス味覚器から検出されなかったが、GIP のレセプター (GIPR) の mRNA は味細胞に発現していることがわかった。また、免疫組織化学的手法を用いた実験の結果、舌前方部茸状乳頭味蕾、後方部有郭乳頭味蕾ともに、GIPR 発現味細胞の約 7 割は甘味受容体サブセットである T1R3 を共発現していた。一方、酸味受容に関わる味細胞のマーカー GAD67 発現味細胞には GIPR の免疫陽性反応はほとんど見られなかった。以上のことから、

腸管内分泌細胞より分泌され、血中に巡った GIP は、甘味受容細胞に発現する GIPR に作用し、甘味応答に何らかの影響を与えている可能性が示唆された。GIP が末梢味覚受容に及ぼせる影響を与えるかについては今後さらなる研究が必要である。

また、味細胞幹細胞培養系「taste organoid」を用いた実験では、有郭乳頭基部より採取した味細胞幹細胞をインスリンを含む培地で培養すると、organoid のコロニーサイズおよび各種味細胞マーカーの mRNA 量がインスリン濃度依存的に増加する傾向が見られた。以上の結果より、インスリンが直接味蕾にインスリン受容体を介して作用し、味細胞の増殖と成熟プロセスに関わっている可能性が示唆された。得られた以上の結果の一部は、国内/国際学会での発表、また雑誌総説、および学術書にて発表した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

1. The function of Glucagon like peptide-1 in mouse peripheral taste system  
Takai S, Yoshida R, Yasumatsu K, Shigemura N, Ninomiya Y :  
Journal of Oral Biosciences, Volume 58, Issue 1, February 2016, P10-P15

[学会発表](計 4 件)

1. 「The expression of glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor (GIPR) and insulin receptor (IR) in mouse taste cells」Shingo Takai, Yuzo Ninomiya, Noriatsu Shigemura  
第 94 回生理学会大会 (2017 年 3 月 29 日、浜松 ポスター発表)

2. 「The expression of glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor (GIPR) and insulin receptor (IR) in mouse

taste cells」

Takai S, Ninomiya Y, Shigemura N

The 15th International Symposium on  
Molecular and Neural Mechanisms  
of Taste and Olfactory Perception  
(YRUF2016/AISCRIB2016) (2016年12月3日  
福岡 ポスター発表)

3. 「マウス味細胞における  
glucose-dependent insulinotropic  
polypeptide receptor (GIPR) の発現」  
高井 信吾、二ノ宮 裕三、重村 憲徳  
(第58回歯科基礎医学会学術大会2016年8  
月26日 札幌 ポスター発表)

4. 「Glucagon like peptide-1, sweet taste  
and metabolic modulation of peripheral  
taste information」

Takai S, Shigemura N, Yasumatsu K, Inoue  
M, Iwata S, Yoshida R, Margolskee RF,  
Ninomiya Y

17th International Symposium on Olfaction  
and Taste (ISOT2016) (2016年6月7日、  
横浜 シンポジスト 招待講演)

〔図書〕(計 1 件)

1. CHEMOSENSORY TRANSDUCTION: DETECTION  
OF ODOR, TASTE AND OTHER CHEMOSTIMULI  
Chapter 17: Peptide signaling in taste  
transduction

Shingo Takai, Ryusuke Yoshida, Noriatsu  
Shigemura, Yuzo Ninomiya

edited by Frank Zufall and Steven D. Munger  
Elsevier (2016)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高井 信吾 (TAKAI, Shingo)

九州大学・大学院歯学研究院・助教  
研究者番号：30760475

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし

(4) 研究協力者  
なし