

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08047

研究課題名(和文)ニワトリにおける油脂の味覚受容機構の解明

研究課題名(英文)Functional analysis of fat taste system in chickens

研究代表者

川端 二功(Kawabata, Fuminori)

弘前大学・農学生命科学部・准教授

研究者番号：40633342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：油脂は動物にとって必須の栄養素であり嗜好性も高い。家畜飼料中の油脂は味覚で認識されていると考えられるが、ニワトリにおける油脂の味覚受容機構には不明な点が多い。本研究ではニワトリにおける油脂の味覚受容機構を明らかにすることを目的としたが、それらの情報は人為的に嗜好性を制御する方法の確立につながり、ニワトリの効率的な生産に資すると考えられる。

本研究により、ニワトリのGPR120というタンパク質が種々の脂肪酸に対して応答することを見出した。これらの結果より、ニワトリは飼料中に含まれている主たる脂肪酸に対する化学受容体を口腔内に有していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりニワトリ脂肪酸受容体が感知できる脂肪酸をいくつか同定することができた。また、ニワトリは口の中のリパーゼを使って油脂を脂肪酸に一部分解し、脂肪酸受容体で脂肪酸を受容していると推察された。これらの知見は味覚生理学や飼料学に貢献するのみならず、ニワトリの嗜好性を制御できる新たな飼料作りにも貢献できる可能性があるため、家禽産業に対しても大きな意義があると考えている。

研究成果の概要(英文)：Fat is essential nutrition for animals and the preference is very high. In the case of chickens, although fat nutrition is thought to be recognized by taste system, there are many unknown mechanisms. In the present study, we focused on the elucidation of fat taste systems in chickens because the information is useful to make new feedstuffs for chickens.

In the present study, we found that GPR120 responds to some kind of fatty acids. These results suggest that chicken oral tissues have the chemical receptor for fatty acids contained in chicken feeds.

研究分野：家畜生理学、栄養化学

キーワード：ニワトリ 味覚 油脂 GPR120 CD36 リパーゼ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

油脂の味は、基本五味（甘味、うま味、苦味、酸味、塩味）とは別個の第六の味覚と呼ばれている。油脂（脂質）は三大栄養素の一つであることから、動物の成長には欠かせないが、カロリーが高く嗜好性も強いことから過剰な脂肪の蓄積につながり、動物の健康にとって望ましくない面も目立つ。産業上極めて重要な動物であるニワトリにおいて、油脂の味を認識する受容機構はほとんどわかっていない。ニワトリにおいても油脂は必須の栄養素であるが、過剰な脂肪蓄積は鶏肉の歩留まりを悪くする。また、ニワトリの品種や成長段階の違いにより油脂の必要量は異なる。従って、油脂摂取の適切なコントロールは家禽産業において重要な課題である。

近年、我々はニワトリ口腔組織に GPR120 が発現していることを見出した。さらに、ニワトリ *GPR120* 遺伝子をクローニングし、GPR120 発現細胞を構築して Ca²⁺イメージングを行ったところ、飼料中に含まれる主要な脂肪酸であるオレイン酸とリノール酸が GPR120 のアゴニストであることを明らかにした。また、オレイン酸とリノール酸を豊富に含むコーン油をニワトリが好むことも行動学的に明らかにし、ニワトリが受容体を介して油脂の味質を認識していることが示唆された (Sawamura *et al.* 2015)。しかし、GPR120 を活性化する他の脂肪酸やアンタゴニスト、さらには油脂が口腔内で脂肪酸に消化される過程はまだ不明であった。

2. 研究の目的

ニワトリにおける油脂の味覚受容機構を解明するため、以下の項目について明らかにすることを目的とした。1) GPR120 を活性化する脂肪酸を新たに見出すこと、2) GPR120 のアンタゴニストを見出すこと、3) 油脂を脂肪酸に分解する口腔内リパーゼの有無、4) ニワトリ消化管における *GPR120*、脂肪酸トランスポーター *CD36*、各種リパーゼ遺伝子の発現、5) 行動試験による脂肪酸に対する嗜好性の検証

3. 研究の方法

(1) ニワトリ GPR120 発現細胞を用いた Ca²⁺イメージング

ニワトリ口蓋よりクローニングした *GPR120* 遺伝子の入ったプラスミドベクターを HEK293T 細胞に強制発現させ、細胞内 Ca²⁺蛍光指示薬である Fluo-4 を用いて Ca²⁺イメージングを行った。

(2) ニワトリ消化管におけるリパーゼ活性測定

ニワトリの消化管組織のホモジネートを調整し、組織毎のリパーゼ活性についてリパーゼ活性蛍光指示薬を用いて測定した。

(3) ニワトリ消化管の *GPR120*、*CD36*、各種リパーゼ遺伝子の発現確認

RT-PCR によりニワトリ消化管における *GPR120*、*CD36*、および各種リパーゼ遺伝子の発現の有無を検証した。

(4) 行動試験による脂肪酸に対する嗜好性の検証

ニワトリ GPR120 を活性化することがわかっているオレイン酸の入った溶液に対して、ニワトリヒナが嗜好性を示すかどうかを 5 分間の短時間摂取試験で検証した。溶液の粘度を揃えるため、コントロール溶液（溶媒）には 0.2%キサンタンガム溶液を用いた。

4. 研究成果

(1) ニワトリ GPR120 を活性化する新規脂肪酸、ならびにアンタゴニスト候補の同定

ニワトリが普段口にして飼料中に含まれている脂肪酸について GPR120 活性を検証したところ、既知のオレイン酸、リノール酸に加え、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、およびドコサヘキサエン酸といった脂肪酸が GPR120 活性化能を持つことが明らかとなった。これらの結果より、ニワトリが普段口にして飼料中の脂肪酸の多くは GPR120 によって感知されている可能性が考えられた。さらに、AH7614 という物質がニワトリ GPR120 を抑制したことから、アンタゴニストとして機能すると考えられた。AH7614 による GPR120 抑制については行動試験でも検証する必要がある。

(2) ニワトリ脂肪酸トランスポーター *CD36* の遺伝子クローニング

CD36 は脂肪酸トランスポーターとして機能することが知られているタンパク質である。*CD36* は哺乳類の味蕾での発現も確認されており、GPR120 と並んで油脂の味覚受容に関与していると考えられている。本研究ではニワトリの口蓋より *CD36* 遺伝子をクローニングし、ロードアイランドレッド種の *CD36* の塩基配列を決定した。今後 *CD36* タンパク質を強制発現した細胞を構築し、各種脂肪酸の輸送能を測定していきたい。

(3) ニワトリ消化管におけるリパーゼ活性測定

クチバシ、口蓋、及び舌尖の組織ホモジネートのリパーゼ活性は脾臓のリパーゼ活性と比較すると有意に低かったが（脾臓の 20~50%程度）、胃のリパーゼ活性とは同程度であった。こ

これらの結果より、ニワトリ口腔組織にはリパーゼが存在し、油脂を脂肪酸に分解できる素地があることが明らかとなった。

(4) ニワトリ消化管の *GPR120*、*CD36*、各種リパーゼ遺伝子の発現確認

GPR120、*CD36*、及び数種類のリパーゼ遺伝子について RT-PCR で消化管における発現の有無を検証した。その結果、いずれの遺伝子も細かい分布の違いはあるものの、口腔組織ならびに消化管に幅広く発現していることが確認できた。

(5) 行動試験による脂肪酸に対する嗜好性の検証

オレイン酸に対する嗜好性を短時間摂取試験により検証したが、実施したいずれの濃度においてもコントロール溶液との差はみられなかった。しかし、追加で味覚嫌悪学習を実施したところ、オレイン酸に対する嫌悪学習が成立したことから、オレイン酸を味として認識していることが示唆された。これらの結果より、*GPR120* を活性化するオレイン酸をニワトリは味として感じていると考えられた。

以上の結果より、ニワトリは油脂を口腔内リパーゼで一部脂肪酸に分解し、その脂肪酸が口腔組織に発現する *GPR120* を活性化することで味として認識されていることが示唆された。本研究により、ニワトリの油脂の味覚受容機構の一端が解明された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件(うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件)

1. 著者名 Kawabata Y, Kawabata F*, Nishimura S, Tabata S. (*Corresponding author)	4. 巻 495
2. 論文標題 Oral lipase activities and fat-taste receptors for fat-taste sensing in chickens	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 131 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.125	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Fuminori Kawabata, Yuko Kawabata, Yuta Yoshida, Hikaru Omori, Momoko Higashida, Bapon Dey, Ruojun Liang, Kana Murayama, Yui Hayase, Masashi Araki, Shotaro Nishimura, Liu Hong-Xiang, Shoji Tabata
2. 発表標題 Taste receptors and taste behaviors in chickens
3. 学会等名 THE 48th NAITO CONFERENCE on Integrated Sensory Sciences-Pain, Itch, Smell and Taste (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fuminori Kawabata, Yuko Kawabata, Yuta Yoshida, Bapon Dey, Nozomi Hirose, Ryo Sawamura, Hikaru Omori, Momoko Higashida, Shotaro Nishimura, Shoji Tabata
2. 発表標題 Taste systems in chickens
3. 学会等名 English Poster Session "Meet the Professor", 121th Annual meeting of Japan Poultry Science Association (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kawabata Y, Kawabata F, Nishimura S, Shigemura N, Tabata S.
2. 発表標題 Oral lipase activities and the expressions of fat taste receptors in chickens
3. 学会等名 The 16th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 川端由子, 川端二功, 西村正太郎, 重村憲徳, 田畑正志
2. 発表標題 ニワトリ口腔組織における油脂の化学受容機構
3. 学会等名 日本味と匂学会第51回大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	川端 由子 (Kawabata Yuko)		
研究協力者	西村 正太郎 (Nishimura Shotaro)		
研究協力者	重村 憲徳 (Shigemura Noriatsu)		
研究協力者	田畑 正志 (Tabata Shoji)		