

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(B)（特設分野研究）

研究期間：2019～2021

課題番号：19KT0005

研究課題名（和文）ニワトリの苦味感知機構抑制を基盤とした新規養鶏技術の開発

研究課題名（英文）Development of novel poultry farming technology based on suppression of bitter taste sensing 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） 14,200,000円

研究成果の概要（和文）：畜産業が環境負荷に与えている影響は大きい。本研究では家畜の中でも家禽に着目し、持続可能な家禽産業の構築のため、家禽用飼料をより多様にするための基礎研究を目指した。嗜好性の悪さから飼料源として活用されていない地域資源を掘り起こし、ニワトリが感じる苦味を制御することでこれまで使われてこなかった資源を飼料化する道筋を作ろうと考えた。本研究により、ニワトリの苦味受容体の味細胞における詳細な発現様式と消化管における発現分布が明らかとなった。また、農副産物を活用した新規飼料を開発していくにあたって、ニワトリに苦味をもたらす注意すべき成分が同定できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ニワトリの飼料については、これまで数多くの飼養学的解析がなされてきた。しかし、味覚受容体の観点から飼料を評価した研究はほとんどなかった。嗜好性の悪いものはニワトリが食べないため、飼養学的解析の土俵にも上がることができない。本研究により、ニワトリが感じる苦味のメカニズムの一端が解明された。また、農副産物を新たに飼料化する際に気をつけるべき苦味成分を同定することができた。これらの成果が、農副産物をはじめとした様々な原料からニワトリが感じる苦味成分を除去する技術や、ニワトリの苦味受容体を抑制する技術の開発に繋がると期待された。

研究成果の概要（英文）：The impact of the livestock industry on the environmental burden is significant. In this study, we focused on poultry among livestock and aimed to conduct basic research on how to make poultry feed more diverse in order to build a sustainable poultry industry. We sought to uncover local resources that have not been utilized as a feed source due to poor palatability, and to create a pathway to convert previously unused resources into feed by controlling the bitterness perceived by chickens. This study revealed the detailed expression patterns of bitter taste receptors in chickens in taste cells and their distribution in the gastrointestinal tract. In addition, we were able to identify components that cause bitterness in chickens, which should be taken into consideration when developing new feeds utilizing agricultural by-products.

研究分野：家畜生理学

キーワード：ニワトリ 味覚 苦味 味覚受容体 飼料

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

畜産業が環境負荷に与えている影響は大きい。本研究では家畜の中でも家禽に着目し、持続可能な家禽産業の構築のため、家禽用飼料をより多様にするための基礎研究を目指した。嗜好性の悪さから飼料源として活用されていない地域資源を掘り起こし、ニワトリの味覚を制御することでこれまで使われてこなかった資源を飼料化する道筋を作ろうと考えた。

養鶏の現場において、栄養価は高いが苦味を持つ原料は、その嗜好性の悪さからニワトリ飼料として高配合できない問題があった。そこで、ニワトリが感じる苦味を制御できれば苦味を持つ資源を飼料化できるのではないかと着想した。これまでにニワトリの苦味受容体のアンタゴニストを世界で初めて同定するとともに[1]、主要な飼料の一つである菜種粕の抽出物がニワトリ苦味受容体を活性化すること、ならびにその活性化がアンタゴニストで抑制されることを見出していた[2]。

2. 研究の目的

ニワトリの飼料については、これまで数多くの飼養学的解析がなされてきた。しかし、味覚受容体の観点から飼料を評価した研究はほとんどなかった。多くのバイオリソースが飼料化できないかと検討されてきただろうが、そもそもニワトリが食べてくれないということで断念したものが多くは容易に想像できる。ニワトリが食べなければ、飼養学的解析の土俵にも上がることができない。これまでニワトリ飼料の土俵にも上がってこなかった農副産物等が摂餌可能となれば、飼料源の多様性が広がる。それらは環境保全にも繋がり、地域の独自性も出せるため、養鶏の可能性は増大する。そのような観点から、本研究は既存の養鶏産業を変える基礎研究になると考えた。

本研究ではニワトリの苦味受容機構の詳細を解明し、苦味を制御することで未利用の農副産物等を新たに飼料化する方策を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ニワトリ苦味受容体の一過的発現細胞を用いた飼料原料の苦味の評価

ニワトリの機能的な苦味受容体は T2R1 と T2R7 であることを我々は明らかにしている[1, 3]。これらの受容体をヒト胎児腎臓由来細胞である HEK293T 細胞に一過的に強制発現させ、カルシウムイメージング法を用いて苦味物質に対する応答性を評価した。本研究費にてハイスループットの蛍光プレートリーダーを購入し、解析の速度を上げた。解析対象には数種の既存飼料からの抽出液と、苦味を持つ農副産物に含まれていると考えられるサポニン、タンニン酸、カテキン、シナピン酸について評価した。

(2) ニワトリヒナを用いた飼料原料に対する苦味感受性の行動学的評価

我々はこれまでにニワトリヒナを用いた味覚感受性評価のための短時間の飲水試験のプロトコルを確立している[3]。この方法を用いて、5分間の飲水試験を行った。用いた溶液は既存飼料であるアルファルファミール、大豆粕、脱脂米ぬかの脂溶性成分の希釈液、ならびにサポニン、タンニン酸、カテキン、シナピン酸の水溶液である。

(3) ニワトリ味蕾における苦味受容細胞の味細胞タイプの同定

ニワトリの苦味受容細胞が、どのタイプの味細胞に発現しているのかという知見は、ニワトリにおける苦味受容機構を知る上で重要な点であると考えた。ニワトリにおいては味細胞のターンオーバーが3-4日であり、哺乳類の7-14日と比べると早いため、味細胞の発生過程も両者で異なると考えられている[4]。またこれまでにニワトリの味細胞のマーカータンパク質としてはビメンチンや β -ガストデュエシンが報告されていた[5]。本研究ではニワトリ苦味受容体の一つである T2R7 が、マウスの β 型、 δ 型、 ϵ 型味細胞のマーカータンパク質である GLAST (β 型マーカー)、 β -ガストデュエシン (δ 型マーカー)、SNAP25 および NCAM (ϵ 型マーカー) の発現細胞とどのような関係にあるか免疫組織化学により検討した。

(4) ニワトリの消化管における苦味受容体の発現様式

苦味成分は味としては忌避されるが、免疫賦活作用など、生体にとって有用な特性を持つものも存在する。したがって、本研究では苦味成分の標的受容体である苦味受容体がニワトリ消化管にどのように発現しているか明らかにするため、本研究費で購入したリアルタイム PCR 装置を用いて mRNA 発現を消化管の各部位で比較した。

4. 研究成果

(1) ニワトリ苦味受容体の一過的発現細胞を用いた飼料原料の苦味の評価

飼料として用いられているアルファルファミール、大豆粕、脱脂米ぬかの脂溶性成分を用いてニワトリ苦味受容体活性を評価した。その結果、いずれの成分においても明確な苦味活性は

見られなかった。また、サポニンとタンニン酸はニワトリ苦味受容体を活性化させたが、カテキンやシナピン酸では活性化が見られなかった。サポニンはコーヒー粕等に含まれ、タンニン酸は茶粕やワイン粕等に含まれるため、これらを飼料化するにはサポニンやタンニン酸の苦味を制御する必要があると考えられた。

(2) ニワトリヒナを用いた飼料原料に対する苦味感受性の行動学的評価

アルファルファミール、大豆粕、脱脂米ぬかの脂溶性成分を希釈してニワトリヒナに与えたところ、明確な忌避行動は見られなかった。これらの結果より、今回検証した既存飼料は明確な苦味活性はないと考えられた。一方で、水溶性画分については検討できていないので、今後の検討課題である。また、サポニンとタンニン酸溶液をニワトリヒナは忌避したので、これらの成分をニワトリは味として忌避するということが示唆された。一方で、カテキンやシナピン酸の溶液は忌避しなかった。これらの結果は(1)のカルシウムイメージングの結果と一致した。したがって、これらの成分が含まれている原料を飼料化する際には苦味の調整が必要であるということが行動学的観点からも推察された。

(3) ニワトリ味蕾における苦味受容細胞の味細胞タイプの同定

ビメンチンはニワトリ味細胞のマーカータンパク質の一つであるが、味蕾において苦味受容体 T2R7 発現細胞とほとんど共発現していないことを見出した[6]。また、T2R7 発現細胞は - ガストデューションを数%ほど発現していたが、その多くが - ガストデューションを発現していなかった[7]。また、ニワトリでは GLAST、 - ガストデューション、および SNAP25 が共発現している味細胞が多く、マウスのような 型、 型、 型味細胞に明確に分けられないことがわかった[8]。そして、T2R7 発現細胞はそのほとんどが SNAP25 および NCAM を発現していないことを見出した。したがって、苦味受容体 T2R7 の多くは、ビメンチン、GLAST、 - ガストデューション、SNAP25、および NCAM といったタンパク質を発現していない味細胞に発現していることが推察された。これらの結果は、ニワトリの苦味を制御する方法を見出すために必要な基本的な知見になると考えられた。

(4) ニワトリの消化管における苦味受容体の発現様式

ニワトリの苦味受容体は口腔組織だけでなく、気管、盲腸、および総排泄腔といった組織にも発現していることがリアルタイム PCR による解析で明らかとなった。T2R1、T2R2、および T2R7 の3種類の苦味受容体遺伝子があるが、その中でも T2R1 および T2R7 の2種類の苦味受容体がこれらの組織に主に発現していた。また、それらの苦味受容体は口腔組織よりもむしろ気管、盲腸、および総排泄腔において多く発現していることがわかった。口腔組織以外の苦味受容体の機能はニワトリにおいては不明であるが、ヒトにおいては気道上皮に発現する苦味受容体がウイルスや毒物を認識し、繊毛運動を活性化させることでそれらを排除するクリアランス機構が存在することが報告されている。したがって、ニワトリにおいても気管や総排泄腔においてそのようなクリアランス機構があるのかもしれない。また、盲腸には腸内細菌が多数存在するが、腸内発酵の代謝産物あるいは腸内細菌由来物質を苦味受容体が認識し、ホルモン分泌等を介した代謝制御を行なっている可能性も考えられた。

以上の結果より、ニワトリの苦味感受性に関わる苦味受容体の味細胞における詳細な発現様式と消化管における発現分布が明らかとなった。また、農副産物を活用した新規飼料を開発していくにあたって、ニワトリに苦味をもたらす注意すべき成分が同定できた。また、本研究を通してニワトリの味覚受容機構の一端が解明され、ニワトリの味覚に関する総説論文を複数出版することができた[9, 10]。

< 引用文献 >

- [1] B. Dey, F. Kawabata, Y. Kawabata, Y. Yoshida, S. Nishimura, S. Tabata, Identification of functional bitter taste receptors and their antagonist in chickens, *Biochem Biophys Res Commun*, 482 (2017) 693-699.
- [2] F. Kawabata, B. Dey, Y. Yoshida, S. Nishimura, S. Tabata, Bitter Taste Receptor Antagonists Inhibit the Bitter taste of Canola Meal Extract in Chickens, *J Poult Sci*, 57 (2020) 223-228.
- [3] N. Hirose, Y. Kawabata, F. Kawabata, S. Nishimura, S. Tabata, Bitter taste receptor T2R1 activities were compatible with behavioral sensitivity to bitterness in chickens, *Biochem Biophys Res Commun*, 460 (2015) 464-468.
- [4] H.-X. Liu, P. Rajapaksha, Z. Wang, N.E. Kramer, B.J. Marshall, An update on the sense

of taste in chickens: A better developed system than previously appreciated, *J Nutr Food Sci*, 8 (2018) 686.

[5] N. Venkatesan, P. Rajapaksha, J. Payne, F. Goodfellow, Z. Wang, F. Kawabata, S. Tabata, S. Stice, R. Beckstead, H.X. Liu, Distribution of alpha-Gustducin and Vimentin in premature and mature taste buds in chickens, *Biochem Biophys Res Commun*, 479 (2016) 305-311.

[6] Y. Yoshida, Z. Wang, K.F. Tehrani, E.G. Pendleton, R. Tanaka, L.J. Mortensen, S. Nishimura, S. Tabata, H.X. Liu, F. Kawabata, Bitter taste receptor T2R7 and umami taste receptor subunit T1R1 are expressed highly in Vimentin-negative taste bud cells in chickens, *Biochem Biophys Res Commun*, 511 (2019) 280-286.

[7] Y. Yoshida, F. Kawabata, S. Nishimura, S. Tabata, The umami receptor T1R1-T1R3 heterodimer is rarely formed in chickens, *Sci Rep*, 11 (2021) 12318.

[8] Y. Yoshida, F. Kawabata, S. Nishimura, S. Tabata, Overlapping distributions of mammalian types I, II, and III taste cell markers in chicken taste buds, *Biochem Biophys Res Commun*, 570 (2021) 162-168.

[9] F. Kawabata, S. Tabata, Bitter Taste Perception in Chickens, *J Poult Sci*, 59 (2022) 8-15.

[10] Y. Yoshida, S. Nishimura, S. Tabata, F. Kawabata, Chicken taste receptors and perception: Recent advances in our understanding of poultry nutrient-sensing systems, *Worlds Poult Sci J*, 78 (2022) 5-20.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kawabata Fuminori、Tabata Shoji	4. 巻 59
2. 論文標題 Bitter Taste Perception in Chickens	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Poultry Science	6. 最初と最後の頁 8～15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2141/jpsa.0210017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yoshida Yuta、Nishimura Shotaro、Tabata Shoji、Kawabata Fuminori	4. 巻 78
2. 論文標題 Chicken taste receptors and perception: recent advances in our understanding of poultry nutrient-sensing systems	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World's Poultry Science Journal	6. 最初と最後の頁 5～20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00439339.2022.2007437	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yoshida Yuta、Kawabata Fuminori、Nishimura Shotaro、Tabata Shoji	4. 巻 570
2. 論文標題 Overlapping distributions of mammalian types I, II, and III taste cell markers in chicken taste buds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 162～168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.07.025	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 -
1. 著者名 Yoshida Yuta、Kawabata Fuminori、Nishimura Shotaro、Tabata Shoji	4. 巻 11
2. 論文標題 The umami receptor T1R1/T1R3 heterodimer is rarely formed in chickens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-91728-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kawabata Fuminori, Yoshida Yuta, Kuba Seiga, Kawabata Yuko, Nishimura Shotaro, Tabata Shoji	4. 巻 -
2. 論文標題 Fatty Acid Taste Receptor GPR120 Activation by Arachidonic Acid, Eicosapentaenoic Acid, and Docosahexaenoic Acid in Chickens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Poultry Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2141/jpsa.0210099	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 川端 二功	4. 巻 28
2. 論文標題 総説 2020 年度日本味と匂学会研究奨励賞受賞記念(味部門) ニワトリの味覚受容体及びTRP チャネルの機能と食行動	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本味と匂学会誌	6. 最初と最後の頁 3~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18965/tasteandsmell.28.1_3	査読の有無 無
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 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 川端二功
2. 発表標題 ニワトリの苦味受容機構に関する研究
3. 学会等名 日本家禽学会2021年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川端二功
2. 発表標題 トウガラシの研究からニワトリの味覚・体性感覚研究へ
3. 学会等名 日本味と匂学会第54回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川端二功
2. 発表標題 ニワトリの味覚・体性感覚の受容体の機能と食行動
3. 学会等名 第45回鳥類内分泌研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

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

〔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
連携研究者	吉田 悠太 (Yoshida Yuta) (00875023)	茨城大学・農学部・助教 (12101)	
連携研究者	川端 由子 (Kawabata Yuko) (40906830)	九州大学・歯学研究院・助教 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------