

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02338

研究課題名（和文）ニワトリの口腔内アミノ酸センサーの同定とそれらを介した食行動調節機構の解明

研究課題名（英文）Identification of Oral Amino Acid Sensors in Chickens and Elucidation of the Regulatory Mechanisms of Food Behavior through Them

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） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：ニワトリの口腔組織でアミノ酸を感知する味覚受容体（センサー）はあまり明らかになっていなかった。本研究により、カルシウム感知受容体（CaSR）の活性が、20種のアミノ酸の中で酸性アミノ酸以外のL-アミノ酸によって増強されることがわかった。また、行動学的手法により、L-アラニン、L-セリン、L-プロリン、L-バリン、L-ヒスチジン、およびL-リシンをニワトリが味として認識していることがわかった。また、L-アルギニンを強く忌避することもわかった。したがって、ニワトリでは一部の中性アミノ酸と塩基性アミノ酸を「味」として認識していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、ニワトリの口腔内アミノ酸センサーとしてカルシウム感知受容体（CaSR）が機能していると推察された。また、CaSRに作用するアミノ酸がニワトリに「味」として認識されていることを行動学的手法（味覚嫌悪学習試験）で示すことができた。これらの知見は口腔内アミノ酸センサーをターゲットにしたニワトリの食行動制御技術の確立に繋がることから、飼料費が最大の生産コストとなっている家禽産業に直接貢献するとともに、味覚生理学や進化生物学の分野にも有益な情報をもたらすと考えている。

研究成果の概要（英文）：The taste receptors (sensors) that detect amino acids in the oral tissues of chickens have not been well characterized. This study revealed that the activity of calcium-sensing receptors (CaSRs) is enhanced by L-amino acids other than acidic amino acids among the 20 amino acid species. Behavioral methods also revealed that chickens recognize L-alanine, L-serine, L-proline, L-valine, L-histidine, and L-lysine as tastes. They were also found to strongly avoid L-arginine. Therefore, it was considered that some neutral and basic amino acids were recognized as "tastes" by chickens.

研究分野：家畜生理学

キーワード：ニワトリ 味覚 アミノ酸 カルシウム感知受容体 味覚嫌悪学習

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

動物が食べ物を摂取する上で、味覚は視覚や嗅覚とともに最も重要な感覚の一つである。本研究では特に、ニワトリの口腔内アミノ酸センサーの同定に焦点を絞った。ニワトリには歯がなく、餌を丸呑みにするため味覚は存在しないと考える研究者も多かった。しかし、近年の研究により、ニワトリが甘味、うま味、苦味、酸味、塩味の基本五味、並びに第6番目の味と言われている油脂の味やカルシウム味を受容していることが明らかになってきた。各味質には生理学的な意義が存在すると考えられており、アミノ酸を検出する味質はヒトではうま味として知られているが、ニワトリにおけるうま味受容体は未だ特定できていない。

我々は昆布だしのグルタミン酸と鰹節のイノシン酸を合わせると、ニワトリがうま味を相乗的に感じることを行動学的に示した。また、うま味受容体候補である *mGluR1*、*mGluR4*、*T1R1*、及び *T1R3* の mRNA 発現を口腔組織で確認した (Yoshida et al., 2015)。2014 年には Science 誌においてニワトリ T1R1/T1R3 ヘテロダイマーを発現させた細胞が L-アラニン及び L-セリンによって活性化されることが報告され、マウスと同様に T1R1/T1R3 ヘテロダイマーがニワトリうま味受容体の一つであると考えられた。しかし、免疫染色の結果、T1R1 と T1R3 はニワトリではほとんど共発現していないことがわかった。実際のニワトリ味細胞では T1R1/T1R3 ヘテロダイマーはあまり形成されていないことから、ニワトリにおけるうま味受容体の分子実体の解明は一旦振り出しに戻った。

また、我々はカルシウム味の受容体として考えられているカルシウム感知受容体 (Calcium Sensing Receptor, CaSR) がニワトリの口腔組織にも発現し、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$  を受容すること、そして細胞外  $Ca^{2+}$  存在下で L-フェニルアラニン、L-トリプトファン、L-アラニンといったアミノ酸によっても活性化されることを見出した。したがって、CaSR も口腔内アミノ酸センサーとしてニワトリで機能している可能性がある。

### 2. 研究の目的

本研究ではニワトリの口腔内アミノ酸センサーを明らかにするとともに、各アミノ酸をニワトリが味として感じているのか、そして各アミノ酸に対してニワトリがどのような嗜好性を持っているのかを明らかにすることを目的とした。これにより、下記のような学術的意義や今後の展開が期待される。

(1) アミノ酸(タンパク質)は糖質及び脂質とともに三大栄養素の一つであり、ニワトリの成長において重要な成分である。アミノ酸については飼料学や家禽栄養学の観点から多くの研究が展開されてきたが、飼料中のアミノ酸を検出している口腔内アミノ酸センサーはニワトリでは未だ同定されていない。ニワトリのアミノ酸センサーが明らかになれば、それらの活性化や抑制による摂食量制御法や成長のコントロール技術の開発につながるため、家禽産業への波及効果も大きいと考えられる。

(2) 近年味覚受容体は口腔組織のみならず、他の臓器にも発現し、様々な生理機能を担っていることがわかりつつある。本研究が進展し、ニワトリのアミノ酸センサーが同定できたならば、口腔組織以外に発現するアミノ酸センサーの生理的役割の解明にも繋がる。例えば消化管に発現するアミノ酸センサーはタンパク質の消化の度合いをモニタリングし、消化管ホルモンの分泌等に関与していると推察される。

(3) ニワトリは鳥類のモデル動物である。ニワトリでは哺乳類のような T1R1/T1R3 ヘテロダイマーがあまり形成されないという発見は、動物界全体での味覚機構の進化を考える上で重要な知見かもしれない。本研究により鳥類における口腔内アミノ酸センサーを明らかにしていくことで、動物がどのように味覚機能を進化させてきたのか、という問いについて一つの答えを与えることができる。

### 3. 研究の方法

ニワトリの口腔内アミノ酸センサーを明らかにするため、下記3項目を検証した。

(1) 味細胞に発現しているアミノ酸センサー候補分子の同定

ニワトリ CaSR 抗体を作製したので、これを用いて CaSR が味細胞で発現しているか免疫組織化学により検証した。

(2) アミノ酸センサー候補分子 CaSR の機能解析

ニワトリ CaSR が身体を構成する 20 種のどのアミノ酸により活性化されるか検証した。ニワトリ CaSR 遺伝子を組込んだプラスミドベクターを HEK293T 細胞に発現させ、細胞外に  $CaCl_2$  存在下でカルシウムイメージングを行い、 $CaCl_2$  による CaSR の活性化を調節するアミノ酸をスク

リーニングした。

### (3) ニワトリが「味」として感じるアミノ酸の同定と、その嗜好性の検証

動物がどの物質を味として認識しているかを明確にする実験手法の一つが味覚嫌悪学習である。ある物質を動物に舐めさせ、その後直ちに内臓不快感をもたらす塩化リチウムを腹腔内に投与することで危険な物質であることを学習させる。その物質が味として認識される物質であれば、学習が成立した動物は学習していない動物に比べて摂取量が極端に減少する。我々はこの手法を用い、うま味物質やオレイン酸に対してニワトリでも味覚嫌悪学習が成立することを明らかにしてきた (Yoshida et al., 2018, Kawabata et al., 2021)。我々が確立したニワトリでの味覚嫌悪学習試験を各アミノ酸で実施し、ニワトリがどのアミノ酸を味として認識しているかを行動学的に明らかにするとともに、項目 2 で明らかにしたセンサー分子の活性との関連性を考察した。また、本実験のコントロール群は塩化リチウムの代わりに生理食塩水を腹腔内に投与している。これらのニワトリが各アミノ酸溶液に対して水と比べて嗜好性を持っているかどうか検証した。なお、5 分間の摂取量を測定するため消化吸収の影響は少なく、味覚嗜好性を評価できると考えた。

## 4. 研究成果

ニワトリの味蕾は舌ではなく口蓋と口腔底に豊富に存在する。リアルタイム PCR の結果、CaSR の mRNA は口腔底に多く発現していることが示された (Omori et al., 2022)。また、免疫組織化学により、口腔底に CaSR が発現している味細胞があることがわかった (Omori et al., 2022)。さらに、CaSR 発現味細胞の一部は Vimentin と共発現していることも示された (Omori et al., 2022)。

次にカルシウムイメージングにより、ニワトリ CaSR の Ca<sup>2+</sup>による活性化が、20 種のアミノ酸の中で酸性アミノ酸以外の L-アミノ酸 (フェニルアラニン、トリプトファン、チロシン、アルギニン、ロイシン、アラニン、グルタミン、プロリン、セリン、バリン、メチオニン、アスパラギン、リシン、グリシン、システイン、イソロイシン、スレオニン、ヒスチジン) によって増強または延長されることがわかった (Omori et al., 2022; 一部未発表データ)。

味覚嫌悪学習試験では、L-アラニン、L-セリン、および L-プロリンに加え (Yoshida et al., 2022) L-バリン、L-ヒスチジン、L-リシンでも味覚嫌悪学習が成立することがわかった (Yoshida et al., 2024)。また、ニワトリは味覚嫌悪学習に関係なく L-アルギニンを強く忌避することがわかった (Yoshida et al., 2024)。また、L-アスパラギン酸と L-バリンも若干忌避することがわかった (Yoshida et al., 2024)。したがって、ニワトリでは主に一部の中性アミノ酸と塩基性アミノ酸を「味」として認識していると考えられた。CaSR の活性増強作用と味覚嫌悪学習試験の結果は、酸性アミノ酸に対してあまり応答しないという面で一致していたことから、ニワトリがいくつかの中性アミノ酸と塩基性アミノ酸に対する味覚感受性を持つことに CaSR が一部関与している可能性が考えられた。

以上の研究で、ニワトリの口腔内のアミノ酸センサー並びにそれらに作用するアミノ酸による食行動調節作用の一端が明らかになった。これらの情報はニワトリの摂食機構の基盤的な知見になるだけでなく、味覚生理学、進化生物学、並びに家禽産業の発展にも貢献し得ると考えている。

### < 引用文献 >

Yoshida, Y., Kawabata, Y., Kawabata, F., Nishimura, S., & Tabata, S. (2015). Expressions of multiple umami taste receptors in oral and gastrointestinal tissues, and umami taste synergism in chickens. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 466(3), 346-349.

Yoshida, Y., Kawabata, F., Kawabata, Y., Nishimura, S., & Tabata, S. (2018). Short-term perception of and conditioned taste aversion to umami taste, and oral expression patterns of umami taste receptors in chickens. *Physiology & Behavior*, 191, 29-36.

Kawabata, F., Yoshida, Y., Inoue, Y., Kawabata, Y., Nishimura, S., & Tabata, S. (2021). Research Note: Behavioral preference and conditioned taste aversion to oleic acid solution in chickens. *Poultry science*, 100(1), 372-376.

Omori, H., Kawabata, Y., Yoshida, Y., Nagamoto, Y., Kawabata, F., Nishimura, S., & Tabata, S. (2022). Oral expressions and functional analyses of the extracellular calcium-sensing receptor (CaSR) in chicken. *Scientific reports*, 12(1), 17762.

Yoshida, Y., Tanaka, R., Fujishiro, S., Nishimura, S., Tabata, S., & Kawabata, F. (2022). Conditioned taste aversion to L-Amino acid taste stimuli and oral transcriptional changes to Type 1 taste receptors T1R1 and T1R3 on chronic exposure to L-Alanine solution in chickens. *The Journal of Poultry Science*, 59(4), 348-356.

Yoshida, Y., Fujishiro, S., Kawai, R., & Kawabata, F. (2024). Characterization of taste sensitivities to amino acids and sugars by conditioned taste aversion learning in chickens. *animal*, 18(2), 101050.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Yoshida Yuta, Fujishiro Shu, Kawai Ryota, Kawabata Fuminori	4. 巻 18
2. 論文標題 Characterization of taste sensitivities to amino acids and sugars by conditioned taste aversion learning in chickens	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 animal	6. 最初と最後の頁 101050 ~ 101050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.animal.2023.101050	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, Tanaka Ryota, Fujishiro Shu, Nishimura Shotaro, Tabata Shoji, Kawabata Fuminori	4. 巻 59
2. 論文標題 Conditioned Taste Aversion to L-Amino Acid Taste Stimuli and Oral Transcriptional Changes to Type 1 Taste Receptors T1R1 and T1R3 on Chronic Exposure to L-Alanine Solution 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 348 ~ 356
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2141/jpsa.0210128	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 Omori Hikaru, Kawabata Yuko, Yoshida Yuta, Nagamoto Yutaro, Kawabata Fuminori, Nishimura Shotaro, Tabata Shoji	4. 巻 12
2. 論文標題 Oral expressions and functional analyses of the extracellular calcium-sensing receptor (CaSR) in chicken	5. 発行年 2022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/s41598-022-22512-6	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川端二功
2. 発表標題 ニワトリの化学感覚研究と、その研究に至った私の研究哲学
3. 学会等名 日本病態生理学会 冬の学校2023（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川端二功
2. 発表標題 ニワトリ味覚組織における味覚受容関連候補分子の発現解析
3. 学会等名 日本家禽学会2023年度秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉田悠太, 藤代柊, 河合亮汰, 川端二功
2. 発表標題 ニワトリが味覚を感じるアミノ酸と糖のプロファイリング
3. 学会等名 日本家禽学会2023年度秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川端二功
2. 発表標題 動物の味覚・辛み受容体とそれらに作用する食品・飼料の開発
3. 学会等名 日本食品科学工学会 第4回フレッシュマンセミナー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤代 柊, 川端 二功, 吉田 悠太
2. 発表標題 ニワトリが味覚を感じるL-アミノ酸のプロファイリング
3. 学会等名 日本畜産学会第130回大会
4. 発表年 2022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 西村湧美, 仲田莉加子, 川端二功
2. 発表標題 ニワトリ口腔内のアミノ酸受容におけるカルシウム感受受容体の関与
3. 学会等名 日本家禽学会2021年度秋季大会
4. 発表年 2021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 分担者	吉田 悠太  (Yoshida Yuta)  (00875023)	茨城大学・農学部・助教    (12101)	

6. 研究組織（つづき）

	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 分 担 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