

令和 2 年 9 月 18 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07995

研究課題名(和文)第6の味覚、脂肪の味を感受する受容体の諸臓器における発現

研究課題名(英文) Expressions of fatty acid receptors, the 6th taste sensation, in various organs

研究代表者

谷口 和美 (Taniguchi, Kazumi)

北里大学・獣医学部・准教授

研究者番号：00171843

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)：味覚は甘味、苦味、酸味、塩味に加え、旨味も第5の要素と広く認識されている。昨今第6の味として脂肪の味が注目されている。

本研究は4種類の遊離脂肪酸の受容体に注目し、(1)舌の味蕾におけるその発現を、ラットの胎生期から成体に至るまで、組織化学的およびqPCRにより検討した。加えて(2)甘味などの受容体が腸等味蕾以外の組織にも発現することから、回腸、結腸、膵臓における脂肪酸受容体の発現を、ラットの胎生期から成体に至るまで、検討した。

結果、胎生期には羊水、新生期には母乳、離乳後は通常食と、食性は変化するが、胎生期からすでに4種類の脂肪酸受容体は観察した味蕾、腸、膵臓で発現する事を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

味覚の要素として、これまで甘味、苦味、酸味、塩味、それに旨味が5つの要素として広く認識されてきた。本研究は脂肪の味に注目し、これを受容する4種類の遊離脂肪酸受容体に注目して、その詳細を免疫組織化学および定量的PCRにより明らかにしたものであり、また胎生期から成体に至るまでの発生を詳細に明らかにしたものである。結果、4種類の脂肪酸受容体は胎生期から成体に至るまで発現しており、舌の味蕾のみならず、回腸、結腸、膵臓でも胎生期から成体に至るまで発現していることを明らかにした。

この結果は、脂肪味が第6の味覚要素として極めて有力であることを示すものである。

研究成果の概要(英文)： Expressions of fatty acid receptors 1, 2, 3 and 4 were observed along the time course of the ontogenetic development using Wistar rats. Taste buds of circumvallate papillae, foliate papillae, and fungiform papillae were obtained along the time course of the ontogenetic development, including fetal, neonatal, postnatal and adult stages. In addition, ileum, colon, and pancreas were observed in these stages. The amounts of messenger RNAs were measured by real-time PCR using Taqman probes. The localizations of these fatty acid receptors were observed by immunohistochemistry.

These observations revealed the expressions of mRNAs of the fatty acid receptors in the taste buds and the GI tract through fetal to adult stages. Also, their immunohistochemical localizations were observed in the taste cells of all papillae examined. These results suggest the possibility that fatty acid receptors 1 to 4 perceives fat taste, as the 6th taste sensation.

研究分野：獣医解剖学・獣医組織学・獣医発生学

キーワード：味覚受容体 脂肪 遊離脂肪酸受容体 Ffar 発生 味蕾 腸 膵臓

1. 研究開始当初の背景

味覚には従来、甘味、苦味、酸味、塩味の4要素が知られていた。近年、これに旨味を加えて、5要素とする考え方が主流となっている。本研究は、第6の味覚として、脂肪の「味」に注目し、この機能形態学的な詳細を明らかにしようとするものである。

第5の味、旨味の受け入れにあたっては、旨味受容体の少なくとも1種類は7回膜貫通型G蛋白質共役受容体(GPCR)である、ということが重要な契機となった。最近GPR43, GPR120など、従来リガンドが何であるかが解明されていなかったGPCRが、実は脂肪酸をリガンドとすること、また味蕾に発現することが明らかにされ、一躍「脂肪/油の味」の受容体として注目されるようになった。このGPR120は、結腸など、腸管で発現すること、とりわけ結腸の腫瘍(大腸ガン)で陽性細胞数が激増することも、ほぼ同時に明らかになった。

甘味、旨味、苦味などの受容体は、腸管以外の

組織(脳、生殖器等)での発現も報告されており、細胞のエネルギー源や構成材料としての糖やアミノ酸の感受に関与していると考えられている。しかし、脂肪酸受容体は、まだ発見されて間もなく、類似のメカニズムが存在するのか否かの詳細は、未だ解明されていなかった。

2. 研究の目的

味蕾および腸管や膵臓など諸器官での、脂肪の分解産物である脂肪酸の受容体の分布、味蕾以外の組織における機能、他の味覚との関連を明らかにし、ひいては肥満や糖尿病などの生活習慣病に対する基本的な知見を得ることを目的とする。脂肪/油はおいしい。赤身のマグロより、トロの方がおいしいし、塩をふっただけのご飯より、バターライスの方がおいしい。脂肪は従来、味覚の基本味というより、食感に関わる味覚の調節因子であろうと考えられてきた。しかし最近、脂肪の分解産物である脂肪酸の受容体のいくつかはG蛋白質共役型受容体(GPCR)であることが同定され、第6の基本味の候補と考えられるようになった。本研究は、(1)脂肪酸受容体の全身諸臓器での発現、(2)シグナル伝達系、従来から知られている味覚との関係、(3)電気生理学的実験の組み合わせにより諸臓器における機能の解明、および(4)肥満や糖尿病時における発現変化の有無の解明を目指すものである。

3. 研究の方法

1. 味蕾における発現、および2. 味蕾以外の多臓器における発現の解析

1. 脂肪酸受容体を発現している細胞の、舌の味蕾における細胞タイプの同定

味蕾にはI型細胞(支持細胞)、II型細胞(円形の核をもつ受容体細胞)、III型細胞(神経線維とシナプスし、酸味、塩味の受容体を発現する)およびIV型(基底細胞)より成る。加えてこれらの細胞は、脳腸ホルモンとして知られている、様々なペプチドや蛋白質、例えば、Neuropeptide Y、CCK、IGF-1、レプチン、レプチン受容体、グレリン、グレリン受容体等、多岐に亘る分子を発現している。

そこで本研究はまず、脂肪酸受容体を発現している細胞がこれらの従来から知られていた分子のどれを共発現しているのかを明確にすることにより、脂肪酸受容細胞についてのより深い理解を得る。

2. 舌以外の臓器・組織における発現

まず諸臓器を採材し、免疫組織化学およびRT-PCRで、どの臓器に焦点を定めればよいのか、予測する。続いて、ウエスタンブロッティングやIn situ hybridizationを行い、より詳細な観察を行う。

レーザー・マイクロ・ダイセクション(北里大学現有設備)

凍結切片から組織の一部を切り取り、局所で発現しているmRNAのプロファイルを詳細に解析する。

4. 研究成果

遊離脂肪酸受容体 Free fatty acid receptor 1~4、すなわち Ffar1(中鎖脂肪酸受容体)、Ffar2(短鎖脂肪酸受容体)、Ffar3(短鎖脂肪酸受容体)、Ffar4(中鎖脂肪酸受容体)の発現を、胎生期から成体に至るまで経時的に観察した。胎生期、出生、離乳により、羊水、乳汁、ペレットへと食餌が変わるにつれ、Ffarの発現量がどのように変化するか、検討した。材料として胎齢15、18、20日、生後0、3、5、7、14、45、188日齢のWistarラットの回腸、結腸、膵臓を使用した。HE染色および一部、免疫組織化学的観察を行った。またTaqMan probeを用いたリアルタイムPCR(qPCR)により回腸、結腸、膵臓のFfar1~4、Insulin、GlucagonのmRNAを経時的に定量した。ハウスキーピング遺伝子としてActbを用いた。その結果、HE染色の結果、成長に伴って膵臓では外分泌部が発達し膵島の密度は低下すること、回腸と結腸において成長と共に絨毛の丈等が発

達することを確認した。qPCR の結果、Ffar1 は回腸、結腸と膵臓の3臓器共、胎齢 15 日から胎齢 18 日の間に mRNA 量は増加したが、胎齢 18 日以降、ほぼ一定値を示した。Ffar1 の mRNA 量の変化はインスリンのものと類似していた。これに対し Ffar2 は3臓器共、成長に伴い増加し続けた。Ffar3 は膵臓では成長と共に増加したが、回腸と結腸においては胎齢 20 日までは減少し、それ以降は増加した。Ffar4 は、回腸と結腸では胎齢 18 日から生後 14 日にかけては発現量の変化は小さかったが、Adult では著しく増加した。Ffar1~4 の全て、回腸と結腸は成長に伴い非常に類似した変化を示した。観察したほとんどの日齢において、回腸、結腸では Ffar2、4 が Ffar1、3 より多く発現した。Ffar1 は、膵臓では回腸、結腸の数十倍の mRNA 量を示した。以上より、Ffar1~4 は食餌に関わりなく成長と共に増加した。これは成長するにつれて必要なエネルギー量が増加するためであると推察される。これに対し Ffar1 は胎生期に増加を完了しており受容体によって成長のパターンが異なることが明らかとなった。

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 Kazue Kakiuchi ¹ , Kazumi Taniguchi ² , Hiroshi Kubota ^{1*}	4. 巻 8
2. 論文標題 Conserved and non-conserved characteristics of porcine glial cell line-derived neurotrophic factor expressed in the testis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7656
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-25924-5	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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 伊藤 勇人、中橋 冬陽、眞鍋 昇、谷口 和美
2. 発表標題 ラット消化管、膵臓における脂肪酸受容体mRNA量の成長に伴う変化
3. 学会等名 日本解剖学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazumi Taniguchi, Tokuya Konno, Shoko Nakamuta, and Noboru Manabe
2. 発表標題 Expressions of Taste Receptors in the Murine Neurons
3. 学会等名 The 42nd Annual Conference of the Egyptian society of Histology and Cytology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazumi Taniguchi
2. 発表標題 Expression of fatty acid receptors in the rat intestine and pancreas
3. 学会等名 the 19th Congress of the International Federation of Associations of Anatomists（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazumi Taniguchi
2. 発表標題 Immunohistochemical studies on the fatty acid receptors
3. 学会等名 Asian Association of Veterinary Anatomists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazumi Taniguchi, Fuyuharu Nakahashi, Shoko Nakamuta, Pongsiwa Sotthibandhu, and Noboru Manabe
2. 発表標題 Expressions of fatty acid receptors in various tissues in mice
3. 学会等名 The 6th Congress of Asian Association of Veterinary Anatomists (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kazumi Taniguchi, Miho Oku, Yu Sakurai, Yuki Hasegawa, and Noboru Manabe
2. 発表標題 Developmental studies on the expression of fatty acid receptors in the rat taste buds
3. 学会等名 International Federation of Associations of Anatomists: (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
研究 分担者	眞鍋 昇 (Manabe Noboru) (80243070)	大阪国際大学・その他部局等・教授 (34429)	