

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580409

研究課題名(和文)甘味および旨味受容体の諸臓器における発現と機能、特に肥満・糖尿病との関連において

研究課題名(英文) Expressions of sweet and umami taste receptors in various organs, with special references to obesity and diabetes mellitus

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) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：味覚受容体は当初、舌や口腔粘膜に分布する味蕾の味細胞に発見されたため、Taste Receptor と命名された。しかし味覚受容体は味蕾のみならず、多くの組織に発現している。本研究は、脳、膵臓、腸管など味蕾以外の諸臓器の特定の細胞における、味覚受容体の局在・発現を、免疫組織化学、ウエスタンブロッティングおよび in situ hybridizationにより明らかにした。結果、味覚受容体が体内での糖やアミノ酸の代謝に様々に携わっている事が示唆された。また肥満、糖尿病、加齢などの条件下で、味の感受性が鈍り、味覚受容体のmRNAの発現量も減少する事を、行動学的および定量的PCRにより証明した。

研究成果の概要(英文)：Taste receptors were firstly identified in taste buds, however, their expressions in other tissues and cells have been also suggested. The present study investigated detailed localizations and expressions of taste receptors in non-taste tissues, such as the brain, pancreas and intestine, by immunohistochemistry, Western blotting, and in situ hybridization. The present study has also demonstrated reduced sensitivity for various types of tastes in obese, diabetic and old animals as well as reduced amount of expressions of taste receptor mRNAs in diabetic animals than in control animals by behavioral and quantitative real time PCR studies.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：動物生命科学、統合動物科学

キーワード：味覚受容体 糖尿病 肥満 味蕾 膵臓 腸

1. 研究開始当初の背景

甘味および旨味受容体は同じ T1R ファミリー (T は Taste, R は Receptor の意) に属し、当初味蕾で発見されたためこの名がある。甘味受容体、旨味受容体、苦味受容体は G 蛋白質共役膜 7 回貫通型受容体 (GPCR) で、T1R ファミリーと T2R ファミリーに分類される。T1R ファミリーは甘味および旨味受容体。これまで 3 分子、すなわち T1R1、T1R2 および T1R3 が同定されている。T1R2 と T1R3 はヘテロ・ダイマーを形成して甘味受容体として機能、グルコース、スクロース、サッカリンなどの甘味物質を広く感知する。T1R1 と T1R3 はヘテロ・ダイマーを形成して旨味受容体として機能、アミノ酸などの旨味物質の感知を行う。しかしその後これらの受容体は、腸や膵臓などでも発現することが報告され、消化管内や血中の糖の感受に関与していることが解明されつつあり、競争の激しい分野に発展中である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、甘味および旨味受容体の舌の味蕾および味蕾以外の組織・臓器における発現とその機能を明らかにすること、および諸臓器に発現する味覚受容体が肥満や糖尿病に影響を受ける可能性を検討することであった。本研究はとりわけ甘味および旨味受容体に着目し、(1) 舌以外の臓器におけるこれらの味覚受容体の発現と局在を明らかにし、(2) 味覚受容体とグルコースやアミノ酸のトランスポーターとの関連を検討し、(3) 肥満や糖尿病など代謝に関わる異常との関連を考察した。

3. 研究の方法

第一に、mRNA の発現 : mRNA の発現 : RT-PCR, in situ hybridization により、どの臓器の、何細胞に甘味および旨味受容体の mRNA が発現しているか、決定しようと試みた。また、糖尿病や肥満下で、これらの受容体の発現量が変化するかどうかを検討するため、これらのモデル動物、および対照群の平均体重動物を用意し、これらの甘味および旨味受容体の mRNA の発現量を Real time PCR により定量的に測定した。

第二に、免疫組織化学およびウエスタン・ブロッティングにより、甘味および旨味の受容体である T1R1, T1R2, T1R3 に対する抗体、味覚のシグナル伝達系に関わる物質に対する抗体 (gustducin, フォスフォリパーゼ C、イノシトール 3 リン酸、陽イオンチャネル TRPM5 など) 比較のため苦味受容体 T2R ファミリーのメンバーに対する抗体を用いて免疫染色、およびウエスタン・ブロッティングを行った。

第三に、生理的条件、あるいは代謝異常下での各種味物質の嗜好性の変化を、2 ボトル

法により検討した。また、肥満、糖尿病などにおいて、嗜好性の変化を観察し、味覚受容体蛋白質やその mRNA の発現量との関係を考察した。

さらに味覚変換物質であるミラクリンの作用についても検討した。

4. 研究成果

本研究の結果、甘味および旨味の味覚受容体である T1R ファミリーのメンバーである T1R1, T1R2 および T1R3 は脳の神経細胞、膵臓の細胞、腸の基底顆粒細胞等に発現していることを明らかにした。また、肥満個体は、味覚の感受性が低下すること、糖尿病個体も味覚感受性は低下するが、その程度は肥満個体より遥かに著しいことを明らかにした。この結果をもとに血中の糖やアミノ酸を受容する味覚受容体が、糖尿病発症・進行にどのような役割を果たしているかを観察したところ、免疫組織化学では有意な差は見られなかったが、糖尿病になると甘味および旨味に共通する受容体 T1R1, T1R2, T1R3 それぞれの mRNA である *Tas1r1*, *Tas1r2*, *Tas1r3* の発現が減少することを明らかとし、これらの味覚受容体の mRNA のダウン・レギュレーションが起こることが考察された。さらに、糖尿病モデルマウスおよびラットの腸管においても、健常マウスと同様、味覚受容体が発現していることを明らかにした。

さらに、脳の神経細胞における甘味および苦味にかかわる mRNA の量が、味蕾に存在する味覚受容体が中枢神経系でどのような状態で存在するかを調べることを、また、舌や中枢神経系に存在する味覚受容体が血糖値の変動にどのように応答するかを調べることを目的として、2 型糖尿病モデル動物である Goto-Kakizaki (GK) ラットと対象群として Wistar ラットを用いて糖尿病実験群を、Wistar ラットにインスリンを 1 日、3 日投与した群と生理食塩水を投与した群を作成しインスリン投与実験群を作成した。これらのラットの臓器を用いて免疫染色、リアルタイム PCR を行い味覚受容体の発現する場所や、体内の味覚受容体の発現量が血糖値の変動による影響を受けるかどうかを調べた。その結果、蛍光染色の結果、味蕾では T1Rs と T2Rs は別々の細胞に発現するが、中枢神経系では味覚受容体は神経膠細胞や血管内皮細胞には発現せず神経細胞に発現し、T1Rs と T2Rs が共存することがわかった。血糖値が上昇すると、舌と視床下部に存在する T1R2 と T1R3 の発現量は減少するが、その他の味覚受容体の発現量は増加することがわかった。しかし、血糖値が低下すると高血糖の時とは逆に T1R2 と T1R3 の発現量は増加し、その他の味覚受容体の発現量は減少した。このことから、舌と視床下部に存

在し2量体を形成して糖を受容しているT1R2とT1R3は血糖値の上昇によってダウンレギュレーションを引き起こし、その他の味覚受容体は代償的に増加したと考えた。またこれとは逆に血糖値の低下はT1R2とT1R3のアップレギュレーションを引き起こし、その他の味覚受容体は代償的な反応として発現量が増加したと考えた。舌と視床下部に存在する味覚受容体の血糖値による発現量の変化は味覚障害を引き起こすと考えた。

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](投稿準備中4件、受理済み3件の計7件)

Taniguchi, K., and Hisaya Iwakiri. Expressions of taste receptors in the central nervous system and taste bud -Response to the changes in blood glucose levels- In preparation.

Taniguchi, K. and Takamiya, M. Different expressions of T1R family members in the kidney of diabetic and control rats. In preparation.

Taniguchi, K. and Higuchi, M. Different expressions of taste receptors and protein gen product 9.5 and T1R family members in taste buds of diabetic and control rats. In preparation.

Taniguchi, K. and Nii, a. Different expressions of taste receptors and protein gen product 9.5 and T1R family members in the pancreas of diabetic and control rats. In preparation.

Takai A1, Satoh M, Matsuyama T, Ito A, Nakata R, Aoyama T, Inoue H. Secretion of miraculin through the function of a signal peptide conserved in the Kunitz-type soybean trypsin inhibitor family. *FEBS Lett.* 587(12): 1767-1772, 2013.

Nakata R, Takahashi S, Inoue H. Recent advances in the study on resveratrol. *Biol Pharm Bull.* 35(3): 273-279, 2012.

Katsukawa M1, Nakata R, Koeji S, Hori K, Takahashi S, Inoue H. Citronellol and geraniol, components of rose oil, activate peroxisome proliferator-activated receptor and and suppress cyclooxygenase-2

expression. *Biosci Biotechnol Biochem.* 75(5): 1010-1012, 2011.

[学会発表](計8件)

谷口和美、高宮美乃里、吉岡一機、眞鍋昇 腎臓における甘味受容体の発現 - 糖尿病と正常ラットの比較 第157回日本獣医学会(北海道大学)2014年9月9日(演題採択済)

谷口和美、樋口真由香、杉山真言、吉岡一機 糖尿病モデルおよび正常ラットの舌の味蕾における味覚受容体 Tas1R ファミリーと PGP 9.5 との発現 第156回日本獣医学会(岐阜大学)2013年9月21日

Kazumi Taniguchi, Taste sensitivity in diabetic and healthy animals. Mahanakorn University of Technology, School of Veterinary Medicine, (Bangkok, Thailand)、招待講演、2012年10月19日

谷口和美、柴田 睦、井上裕康、原 正美、杉山真言、吉岡一機 糖尿病モデルマウス腸管における味覚受容体 T1R ファミリーの発現について 第154回日本獣医学会(岩手大学)2012年9月15日

Kazumi Taniguchi, Konno T, Kawasaki M, and Taniguchi K. Down-regulation of sweet receptor mRNAs in diabetic mice. International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT) (Stockholm, Sweden), 2012年6月25日

谷口和美、川崎 優、吉岡一機、原 正美、井上康裕 脳における味覚受容体T1Rファミリーの発現について 第153回日本獣医学会(国立感染症研究所、大宮)2012年3月28日

谷口和美、原 正美、不破真佐子、吉岡一機、津田修治、藤野健、倉本和直 加齢による味覚感受性の低下とその形態学的根拠 第152回日本獣医学会学術集会(大阪府立大学、大阪)2011年9月20日

谷口和美、ポンシワ・ソティバン、吉岡一機 味蕾の細胞のアポトーシス 日本解剖学会第57回東北・北海道連合支部学術集会(岩手大学、盛岡)2011年9月10日

〔図書〕(計 1件)

谷口和美、「味と匂いをめぐる生物学」
第2章 味覚を科学する. アドスリー社、
2013年6月20日、ISBN-10: 4904419448

6. 研究組織

(1)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

(2)研究分担者

井上博康 (INOUE, Hiroyasu)
奈良女子大学・生活環境学部・教授
研究者番号: 40183743