

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 12 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26850207

研究課題名(和文)ニワトリ味覚受容体群の同定とその機能解析

研究課題名(英文) Identification of chicken taste receptors and functional analysis of these receptors

研究代表者

川端 二功 (KAWABATA, Fuminori)

九州大学・高等研究院・助教

研究者番号：40633342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では特にニワトリの味覚受容機構に着目し、ニワトリが甘味、うま味、苦味、脂味、及びカルシウム味の各味質を受容する生体機構を有していることを明らかにした。各味質を受容する受容体がニワトリ口腔組織に発現していること、並びに、ニワトリがそれぞれの味質の代表的な味物質を食べ分けることができることを行動学的に明らかにした。また、数種の味覚受容体をクローニングし、受容する味物質をカルシウムイメージング法で同定した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the taste transduction system of chickens. We found that chickens have functional taste systems to detect sweet, umami, bitter, fat, and calcium tastes. We showed that chickens have taste receptors to detect these tastes in oral tissues, and that chickens can judge these taste qualities. Furthermore, we cloned some taste receptor genes from chicken palate or kidney, and identified some agonists of these taste receptors by using calcium imaging method.

研究分野：家畜生体機構学、味覚生理学、栄養化学

キーワード：味覚 ニワトリ うま味 甘味 苦味 カルシウム味 脂味

1. 研究開始当初の背景

ニワトリの味覚研究は、ニワトリの味覚生理に基づいた適切な飼料を設計する上での科学的基盤となる。家禽は全世界の総配合飼料の約 43%を消費しており、ニワトリの味覚機能を解明することは経済的にも重要である。ニワトリの味覚研究はこれまでいかなされてきたが、形態学的解析や行動学的解析が多く、受容体機能と食行動の関連についてはほとんど明らかではなかった。

2. 研究の目的

本研究では、ニワトリの基本五味（甘味、うま味、苦味、酸味、塩味）及び広義の味である脂味およびカルシウム味の受容体の機能解析、並びにそれらの味質に対するニワトリの食行動を解析し、ニワトリにおける味覚受容体群の基本構成の同定とその生理機能を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

ロードアイランドレッド種のニワトリヒナを実験に用いた。

(2) 味覚受容体遺伝子の分子クローニング

ニワトリの味蕾が存在する口蓋よりうま味受容体 T1R1 及び T1R3, 苦味受容体 T2R1 及び T2R7, 油脂の受容体 GPR120 を In fusion クローニング法を用いてクローニングした。また、カルシウム味受容体 CaSR については豊富に発現している腎臓よりクローニングした。

(3) カルシウムイメージング

ヒト胎児由来腎臓細胞である HEK293T 細胞にリポフェクション法又はエレクトロポレーション法を用いて一過的に受容体遺伝子を組込んだ発現ベクターをトランスフェクションした。その後、細胞内カルシウムイオン蛍光指示薬である Fluo-4 又は Fura-2 を負荷し、味物質添加前後の細胞内カルシウムイオン変動を蛍光顕微鏡下又は蛍光プレートリーダーにより検出した。

(4) RT-PCR

各味覚受容体のプライマーを作製し、ニワトリの味蕾が存在する口蓋や口腔底における mRNA の発現を検証した。

(5) 味覚嗜好性試験

甘味、苦味、うま味、脂味、又はカルシウム味の味質溶液や味物質混合飼料を、数時間の絶食・絶水後にニワトリヒナに呈示し、その摂食量や飲水量を測定した。

4. 研究成果

(1) 主な成果

本研究により、ニワトリの味蕾が存在する口蓋・口腔底において、甘味受容分子

SGLT1, GLUT8 及び GLUT9, うま味受容体 T1R1, T1R3 及び mGluRs, 苦味受容体 T2R1 及び T2R7, 油脂の受容体 GPR120 及び CD36, カルシウム味受容体 CaSR の全てが発現していることを確認した(図1)。これらの結果より、ニワトリは口腔組織において甘味、うま味、苦味、脂味、及びカルシウム味の受容体によりそれぞれの味質を検出している可能性が示された。

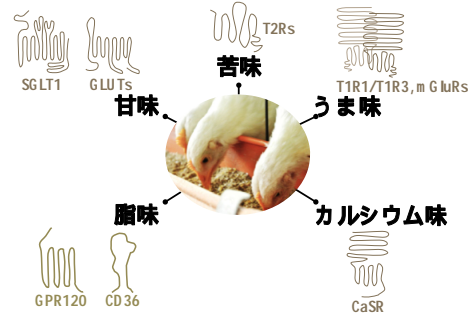


図1 ニワトリ口腔組織に発現していた味覚受容体群

口蓋又は腎臓より各種遺伝子を分子クローニングし、塩基配列を確認した。全ての遺伝子で全長 ORF をクローニングできた。これらの目的遺伝子を一過的に発現した HEK293T 細胞を用いてカルシウムイメージングを行ったところ、苦味受容体 T2R1 及び T2R7 はデキストロメトルファン、ジフェニドール、クロラムフェニコール等の苦味物質を、油脂受容体 GPR120 はオレイン酸、リノール酸、リノレン酸、パルミチン酸を、CaSR は細胞外カルシウムイオンを受容できることが明らかとなった。また、苦味受容体 T2R1 及び T2R7 に対する苦味物質の応答性が、6-メトキシフラバノンによって抑制されることがわかった。以上の結果より、ニワトリ口蓋に発現している各味覚受容体は、それぞれ特定の味物質を受容していることが明確に示された。また、6-メトキシフラバノンが T2R1 及び T2R7 のアンタゴニストとして作用することも示唆され、ニワトリ苦味受容体を抑制するアンタゴニストを初めて見出すことができた。

ニワトリヒナを用いた嗜好性試験において、ニワトリはグルタミン酸とイノシン酸を合わせて添加した飼料を好んで摂取した。一方でグルタミン酸又はイノシン酸を単独で添加した飼料については嗜好性が変化しなかった。この結果は、ニワトリがグルタミン酸とイノシン酸の「うま味の相乗作用」を感じていることを示しており、ニワトリが明確に「うま味」を感じていることが明らかとなった(図2)。

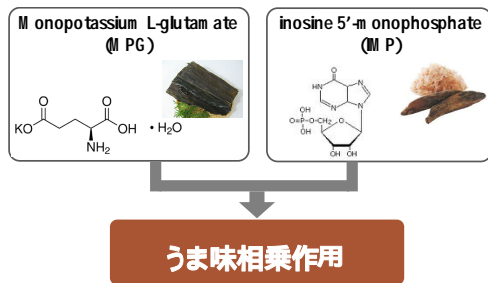


図2 ニワトリにおいてうま味の相乗作用が確認された

ニワトリはコーン油を添加した飼料を通常飼料よりも有意に好んで摂取することがわかった。コーン油には本研究で同定したニワトリ GPR120 のアゴニストであるオレイン酸とリノール酸が豊富に含まれていることから、ニワトリが GPR120 を介してコーン油中のオレイン酸とリノール酸を受容した可能性が考えられた。これらの結果より、ニワトリが油脂の味を認識していることが示唆された。

その他、ニワトリヒナは甘味物質、苦味物質及びカルシウムを含む飼料又は溶液の味も感じていることが嗜好性試験により明らかとなり、行動学的にもニワトリが甘味、うま味、苦味、脂味、及びカルシウム味を認識できることが示された。

以上の研究を要約すると、ニワトリは口腔組織に甘味、うま味、苦味、脂味、カルシウム味を受容する受容体を持ち、それぞれの味質を感知できることが明らかとなった。

(2) 国内外における位置づけとインパクト

哺乳類における主要な甘味受容体は T1R2/T1R3 複合体であり、ニワトリは遺伝的に T1R2 を欠損していることがわかってきた。また、ニワトリを用いた行動学的解析により、甘味溶液に対してほとんど嗜好性を示さないことが報告されていた。しかし、本研究では SGLT1 等の T1R2/T1R3 複合体以外の甘味センサーがニワトリの口腔組織に存在し、嗜好性試験においてもいくつかの甘味物質に対して嗜好性を示すことが明らかとなった。これらの結果は、「ニワトリは甘味を感じている」ということを示すものであり、従来より考えられてきた「ニワトリは甘味を感じない」というニワトリの味覚の常識に変更を迫る結果であると考えられる。

面白いことに、6-メトキシフラバノン¹⁾は苦味受容体 T2R1 と T2R7 の両方を抑制するアンタゴニストであることが明らかとなった。ニワトリには T2R1, T2R2, 及び T2R7 の3種類の苦味受容体しか存在しておらず、なおかつ T2R2 のアゴニストについてニワトリは忌避性を示さないことを我々は行動学的に明らかにしている。従って、ニワトリにとっての

機能的苦味受容体は T2R1 と T2R7 の2つであり、6-メトキシフラバノンはその両方を抑制することから、ニワトリが感じる苦味を全て抑制できる可能性が考えられる。本研究でニワトリ苦味受容体のアンタゴニストを世界で初めて発見できたことは特筆すべき結果であると考えている。

ニワトリの油脂の味覚受容体を初めて同定することができたが、この発見は鳥類が油脂の味を感じていることを初めて示した成果であった。油脂の味は鳥類から哺乳類にわたって動物界で広く受容されている味の一つであることがわかった。

(3) 今後の展望

本研究により、ニワトリが感じる味覚の世界の理解が大いに進展したと思われる。本研究では検証できなかったニワトリの塩味と酸味の受容体については今後明らかにして行く必要がある。

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](計5件)

1. Yoshida Y, Kawabata Y, Kawabata F, Nishimura S, Tabata S. 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, 2015 (査読あり)
doi:10.1016/j.bbrc.2015.09.025

2. Hirose N, Kawabata Y, Kawabata F, Nishimura S, Tabata S. Bitter taste receptor T2R1 activities were compatible with behavioral sensitivity to bitterness in chickens. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 460(2) 464-468, 2015 (査読あり)
doi:10.1016/j.bbrc.2015.03.056

3. Sawamura R, Kawabata Y, Kawabata F, Nishimura S, Tabata S. The role of G-protein-coupled receptor 120 in fatty acids sensing in chicken oral tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 458(2) 387-391, 2015 (査読あり)
doi:10.1016/j.bbrc.2015.01.125

[学会発表](計18件)

1. 川端二功、鳥類の油脂摂取における脂肪酸受容体の役割、第14回ホスファチジルセリン研究会、早稲田大学日本橋キャンパス(東京都中央区)、2015年11月20日(招待講演)

2. 川端二功、The receptors for fat, bitter, and umami tastes in chickens、The 13th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception、九州大学馬出キャンパス(福岡県福岡市) 2015年11月4日

3. 川端二功、ニワトリにおける苦味受容体 T2R1 の活性化と忌避行動の関係性、日本味と匂学会第 49 回大会、じゅうろくプラザ(岐阜県岐阜市) 2015年9月25日

4. 川端二功、家禽の味覚受容体に関する研究、平成 27 年度家畜栄養生理研究会春季集談会、日本獣医生命科学大学(東京都武蔵野市) 2015年5月23日(招待講演)

5. 川端二功、ニワトリ口腔組織における脂肪酸受容体 GPR120 の発現と生理機能、日本畜産学会第 119 回大会、宇都宮大学(栃木県宇都宮市) 2015年3月29日

6. 川端二功、ニワトリの油脂摂取における脂肪酸受容体候補 GPR120 の役割、日本味と匂学会第 48 回大会、静岡市清水文化会館(静岡県静岡市) 2014年10月4日

[その他]

ホームページ等

<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/chiku2/lfa-j.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

川端 二功(KAWABATA, Fuminori)

九州大学・高等研究院・助教

研究者番号: 40633342