

2020年度「杉山産業化学研究所研究助成」報告書

研究題目 脂肪酸が霊長類味蕾オルガノイドに与える影響の解析

東京農業大学食品安全健康学科 岩槻健

#### 【研究目的】

これまでの味覚研究は動物を使った電気生理学実験や、ヒトによる官能評価実験が主流であった。しかし、電気生理学実験は主にげっ歯類をモデル動物として利用しているため、ヒトやサルなどの霊長類とは異なる結果が出やすい。また、官能評価実験はヒトが被験者となるが、それぞれの育った環境や人種によって嗜好性が大きく違い、純粋な味覚評価は難しい。さらに、化学合成された新規呈味物質などの評価は、安全性の問題もあり官能評価では行いにくい。そこで、客観的に味を評価できる実験系が求められているが、味覚センサー技術は発展途上にあり信頼できる段階ではない。我々は最近、霊長類であるサルから味蕾オルガノイドを作製し、*in vitro*において客観的な味の評価系構築に取り組んでいる。これまで苦味物質やうま味物質の応答の取得に成功している。

これまで、マウスなどのげっ歯類を用いた脂肪酸受容体の発現解析や機能解析は進んでいるが、げっ歯類と霊長類では味覚受容体の数や特異性が異なり、味覚感度や味覚嗜好性が異なることが予想される。マウスにおいては、GPR40、GPR120、CD36が脂肪酸受容体として味細胞において機能しているという報告があるが、ヒトを含む霊長類味細胞における実証実験は実施されていない。そこで本研究では、サル味蕾オルガノイドにて脂肪酸が味細胞に与える影響を解析するにあたり、マウスなどで報告されている脂肪酸受容体がサル味蕾オルガノイドでも発現しているかを明らかにした上で、特定の脂肪酸に味蕾オルガノイドが反応するか推定することを目的とした。

具体的には、トランスクリプトーム解析によりサル味蕾オルガノイドが発現する脂肪酸受容体について明らかにする。本研究により、未だ味物質としての認知が十分でない脂肪酸が霊長類の味細胞に与える影響を推定できると考えられる。本研究の成果は、霊長類味蕾オルガノイドを使い、食品や調味料に含まれる脂肪酸の味細胞に及ぼす影響を想定し、今後の味覚受容に関する細胞実験の戦略に役立つと考えられる。

#### 【方法、結果】

我々は、霊長類の味蕾オルガノイドの安定的な培養系構築に成功している。また、味蕾オルガノイドを用いた呈味物質のアッセイ系の確立にも取り組んでおり、味細胞が甘味やうま味に反応するという実験結果を得ている。そこで、本実験では、継代後のサル味蕾オルガノイドを3日

間、6日間、9日間培養し、味細胞分化を促した際にマウスにおいて味細胞で発現すると報告されている脂肪酸受容体 GPR40、GPR120、CD36 がサル味蕾オルガノイドでも発現するかをトランスクリプトーム解析により調べた。まず、味蕾オルガノイドを継代後、3日、6日、9日後に細胞を回収し RNA-Seq 用の遺伝子ライブラリーを作製し、シーケンスを行った。ヒートマップ解析をすることにより、培養日数と共に変化する遺伝子群が明らかとなったため、発現量が有意に増加する遺伝子群を調べた結果、その中には味覚受容関連遺伝子は存在しないことが分かった（図1）。より詳細に解析するため、味細胞に発現するうま味受容体（TAS1R1）、うま味・甘味受容体（TAS1R3）、酸味受容体（OTOP1）、味細胞選択的Gタンパク質（GNAT3）、味細胞選択的酵素（PLCb2）等の発現を Transcripts per million（TPM）値により算出した。その結果、いずれのサンプルからもこれら味細胞関連遺伝子群が発現していること、継代後9日目には多くの遺伝子発現が低下する傾向にあることが分かった（表1）。一方、マウス味細胞においてその発現が確認されている脂肪酸受容体 GPR40、GPR120、CD36 の発現は、いずれも次世代シーケンサーでは検出限界以下かほとんど発現していなかった（表1）。これらのことから、我々が作製し継代を繰り返し維持しているサル味蕾オルガノイドは、脂肪酸の味を解析するには適さないことが明らかとなった。

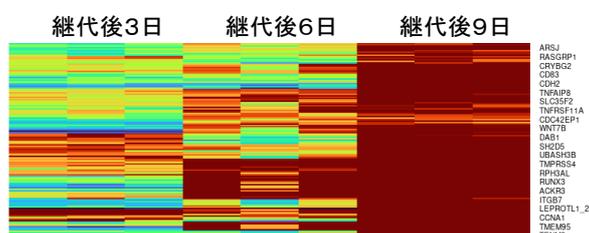


図1 ヒートマップ解析  
味蕾オルガノイドを継代後3、6、9日目の遺伝子発現解析を行い、培養日数により増加する遺伝子群を選択してヒートマップ解析に供した。味細胞関連遺伝子はこのグループには入っていない。

遺伝子名	継代後3日	継代後6日	継代後9日
TAS1R1	40.00	48.10	21.86
TAS1R3	12.10	15.94	13.31
GNAT3	18.10	18.38	8.61
OTOP1	382.09	155.82	181.79
PLCB2	13.26	25.94	19.57
GPR40 (FFAR1)	0.00	0.00	0.00
GPR120 (FFAR4)	0.00	0.00	0.00
CD36	0.06	0.02	0.00

表1 味覚関連遺伝子と脂肪酸受容体のTPM値  
味覚関連遺伝子は培養日数とともに値が下がる傾向にあった。一方、脂肪酸受容体は本味蕾オルガノイドでは検出限界以下であった。

## 【考察】

マウスで発現が確認されている脂肪酸受容体 GPR40、GPR120、CD36 が霊長類で発現しているかは調べられていない。今回の実験結果より、上記脂肪酸受容体の発現は認められなかった。我々が作製したサル味蕾オルガノイドは、甘味、うま味、苦味、酸味などの味覚受容体の発現は確認できているため、これらの味質のアッセイには利用できる。しかし、脂肪酸の味を解析するためには別の方法が望ましいことが判明した。

マウスと霊長類の味細胞で脂肪酸受容体の発現パターンが異なるのか、単にオルガノイドの状態では脂肪酸受容体が発現しないのかは、今回の研究からは明らかでなく、今後、霊長類味細胞を用いた直接的な解析が必要になるであろう。