

総説特集：「うま味と味覚嗜好性」

霊長類の食行動と味覚受容体の進化

今井 啓雄

(京都大学 霊長類研究所 ゲノム細胞研究部門 ゲノム進化分野)

ヒトを含む様々な霊長類は、世界各地に生息し、その採食品目も多岐にわたる。我々は、その原因となる遺伝的背景の解明を目指して、味覚受容体の機能解析と行動実験を組み合わせた研究をおこなってきた。本稿では、最近わかってきた苦味受容体や甘味受容体の機能を中心に、ヒト以外の霊長類の食行動との関連を解説する。

キーワード：GPCR、苦味、甘味、カルシウムイメージング、行動実験

はじめに

21世紀に入ってから約20年、ヒトの味覚受容体の研究は盛んに行われてきた。また、モデル動物としてのマウスの味覚受容体も、機能や発現部位、食行動との関連も含めて詳細な研究が行われている。しかし、苦味受容体のレパトリーや甘味受容体の人工甘味料に対する感受性の違いなど、マウスを用いるだけではヒトの食行動を理解することはできない。そのため、ヒトの食行動を理解するためにヒト以外の霊長類を研究することには意義があると考えられる。これらの霊長類は自然環境で生息・進化してきたため、環境適応等の自然選択が働いている可能性がある。また、ニホンザル等を用いればヒトでは倫理的・環境的に不可能な実験も可能である一方で、近年の動物福祉の観点から、動物そのものを用いた実験よりも、遺伝子や細胞を用いた実験で代替することが求められている。我々は近年、遺伝子や細胞を用いた実験を実施した上で、動物個体を用いて確認を行うことにより、様々な霊長類味覚受容体の類似性と多様性を明らかにすることに成功した。本稿では、これらの例を示したい。

苦味受容体 TAS2R16 の機能多様性と食行動

苦味受容体 TAS2Rs、甘味・うま味受容体 TAS1Rs が発見されると、味覚の研究は遺伝子・タンパク質のレベルに発展した。ゲノム計画の発展と相まって、今日では、ヒトやニホンザルは約26種類、マウスは40種類の TAS2R 遺伝子をゲノム中に有していることがわかってきている。種によって遺伝子の数も異なる

が、それぞれの遺伝子の機能も微妙に異なる。例えば、ヒトやニホンザルの TAS2R38 は人工苦味物質 PTC (Phenyl-Tio-Carbamide) の受容体である¹⁾ が、マウスの相同遺伝子は PTC に反応しない²⁾。また、ヒトの TAS2R16 は鎮痛薬 salicin に反応するが、マウスの相同遺伝子は salicin に反応しない。このように、苦味受容体では同じ遺伝子でも種によって反応性が異なる現象が多々みられる³⁾。そのため、一つ一つの受容体の特性を決めていくことが重要になる。

そこでまず、ほぼすべての霊長類が共通に持つ苦味受容体 TAS2R16 の機能をタンパク質レベルで比較検討した⁴⁾。その結果、それぞれの種特異的な天然植物成分に対する反応パターンが観察された (図1)。

このうち、ヤナギの樹皮等に含まれる salicin についてはニホンザルの行動実験で感度が著しく低いことを確認するとともに、樹皮等を食べる特異的な採食活動との関係が示唆された³⁾。そこで、タンパク質レベルでの機構を様々なリガンドや変異体を用いて解析した。様々な変異体解析の結果、TAS2R16 のアミノ酸配列のうち、3つのアミノ酸残基の変異によりこれらの現象がほぼ説明できることがわかった⁴⁾。すなわち、進化の過程で苦味受容体に生じた様々な変異が、個体の苦味感受性を決定し、ニホンザルの場合は樹皮に含まれる salicin に苦味をあまり感じなくなることにより、冬場でも樹皮を食べて生き残ることが示唆された。

また、TAS2R16 についてはナシ類の皮などに含まれる arbutin についても種間での反応性の差が観察さ

Feeding behavior of primates as related to the evolution of taste receptors.

Hiroo Imai

Molecular Biology Section, Department of Cellular and Molecular Biology, Primate Research Institute, Kyoto University, 41-2 Kanrin, Inuyama, Aichi 484-8506
TEL: 0568-63-0577; FAX: 0568-62-9557; E-mail: address imai.hiroo.5m@kyoto-u.ac.jp

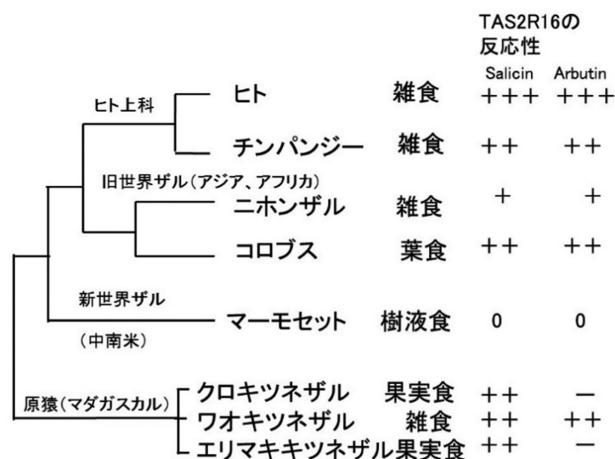


図1 霊長類の TAS2R16 の反応性

ヒトの TAS2R16 が salicin、arbutin とも反応性が最も高く (+++)、ニホンザルでは反応性が弱い (+)。マーモセットでは反応は観察されなかった (0)。

キツネザル類では salicin に対してはどの種もアゴニスト反応 (++) を示すが、arbutin に対してはクロキツネザルとエリマキキツネザルではインバースアゴニスト反応 (-) を示した。

れた⁴⁾。特に、アフリカ東部のマダガスカル島で適応放散しているキツネザル類の TAS2R16 について機能を検討した結果、興味深い結果が得られた(図2)⁵⁾。

すなわち、キツネザル以外のこれまで調べた TAS2R16 は、salicin と同様に arbutin を添加した場合に G タンパク質の活性化を促進する「アゴニスト」反応を示す。ところがクロキツネザルやエリマキキツネザル等の TAS2R16 は salicin 添加の際は「アゴニスト」反応を示すが、arbutin 添加の際は salicin とは逆に G タンパク質を活性化しなくなる「インバースアゴニスト」的な反応を示した。salicin と arbutin の構造は、ベンゼン環に結合している官能基の位置や構造が異なるだけである。すなわち、受容体に結合する際に、これらの β グリコシド類は官能基の位置関係で活性化を促したり抑制したりすることがあることを示している。

これまで変異体以外の味覚受容体のインバースアゴニストは見つかっていない。また、天然のインバースアゴニストも報告はない。今回、キツネザルの受容体でインバースアゴニストを発見したことは、二重の意味で味覚受容体の分子レベルの研究に寄与できると考えている。

また、行動実験によりクロキツネザルが salicin 溶液、arbutin 溶液、そして salicin と arbutin の混合液に対して起こす選択反応を検討した。果物をこれらの溶液に浸してニホンザル等に与えると拒否反応を示す。クロキツネザルでも、salicin 溶液を含む果物に対しては拒絶反応を示したが、arbutin 溶液を含む果物に対しては有意な反応は示さなかった。また、salicin と arbutin の混合液に対しても有意な反応を示さなかった。この結果は、arbutin がインバースアゴニストとし

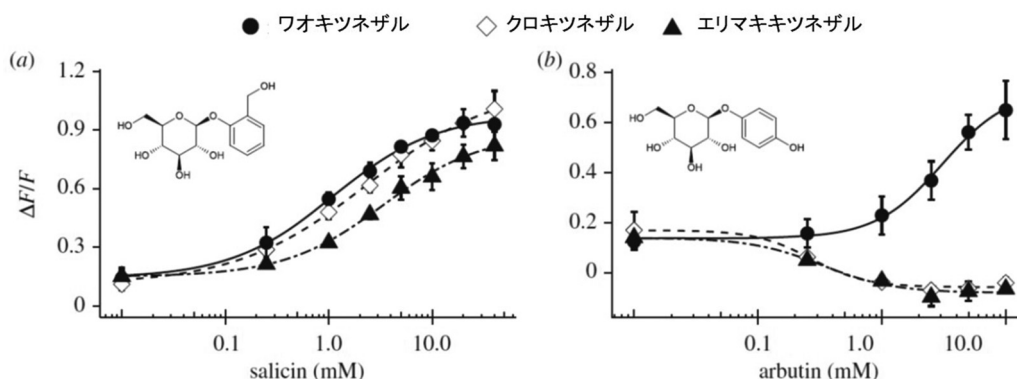


図2 salicin と arbutin に対するキツネザル TAS2R16 の反応

salicin に対してはどの種もカルシウムイオン濃度に対応する蛍光強度が増加するアゴニスト反応を示すが、arbutin に対してはクロキツネザルとエリマキキツネザルでは蛍光強度が減少するインバースアゴニスト反応を示した。

霊長類の食行動と味覚受容体の進化

て働くことにより、salicinの苦味を緩和している可能性を示唆している。今後は、キツネザル類の生息域における植物類等を調べることにより、インバースアゴニストの適応的な意義を発見することができるかもしれない。

キツネザルの仲間には尾に縞があるワオキツネザルがいる。興味深いことに、ワオキツネザルのTAS2R16はarbutinに対してインバースアゴニストではなく他の真猿類と同様のアゴニスト的な反応を示した。ワオキツネザルとクロキツネザルのTAS2R16を比較すると、アミノ酸残基の違いは10個以下であったため、部位特異的な変異体を作製することにより、インバースアゴニストを生み出す進化的プロセスを検討することにした。それぞれの部位をクロキツネザル型にしたワオキツネザルTAS2R16のなかで、282番目のロイシン残基をセリンにしたL282S変異体でarbutinによるインバースアゴニスト反応を示した。一方、クロキツネザルS282L変異体やエリマキキツネザルS282L変異体はarbutinによるインバースアゴニスト反応を示さなくなり、アゴニスト的な応答を示した。これらの結果、282番目のアミノ酸残基がキツネザル類のインバースアゴニスト反応に寄与するアミノ酸残基であることが明らかになった。282番目のアミノ酸残基は7番目の膜貫通領域において、細胞質側に近いところに位置していると考えられる。arbutin結合部位は、より細胞外側に近い部位であると考えられるため、インバースアゴニスト反応を起こす分子メカニズムは未だ不明であるが、arbutin結合時に7番目の膜貫通領域を含むタンパク質の一部に構造変化が起こり、282番目

の残基の効果は、G蛋白質活性化に至る構造変化過程に影響を与えていると考えることができる。進化的には霊長類の祖先で282番目の残基はロイシンであったが、キツネザルの祖先でL282Sの変異が起こってインバースアゴニスト反応が生じるようになり、キツネザルでは再度S282Lの変異が起こったと想像される(図3)。

ワオキツネザルが雑食型、クロキツネザルやエリマキキツネザルは果実食型であることを考えると、このような変異が起こった過程で食行動にどのような影響があったのか想像することは興味深い。現在、マダガスカル植生調査等にも関わりは始めているため、今後、適応的な意義が明らかになると期待される。

TAS2R38

ヒトではTAS2R38の機能に個人差があることが知られており⁶⁾、一部減弱している遺伝子型を持つヒトはPTCの苦味を感じない(non-tasterと呼ばれている)。苦味を感じる遺伝子型は主に49, 262, 296番目にそれぞれプロリン、アラニン、バリンを持つPAVタイプであり、苦味を感じない遺伝子型はこれらの位置にアラニン、バリン、イソロイシンをそれぞれもつAVIタイプが多い⁷⁾。これらの変異はヒトがチンパンジーとの共通祖先から分岐した後アフリカ近辺で発生し、世界中に波及したと考えられている。ところが行動実験ではチンパンジーをはじめ、様々な霊長類種でPTCの苦味を感じない個体が存在することが知られている⁸⁾。2006年にWoodingらがチンパンジーではTAS2R38の本来の開始コドンの位置がATGからAGGに変異している個体がいることを報告してか

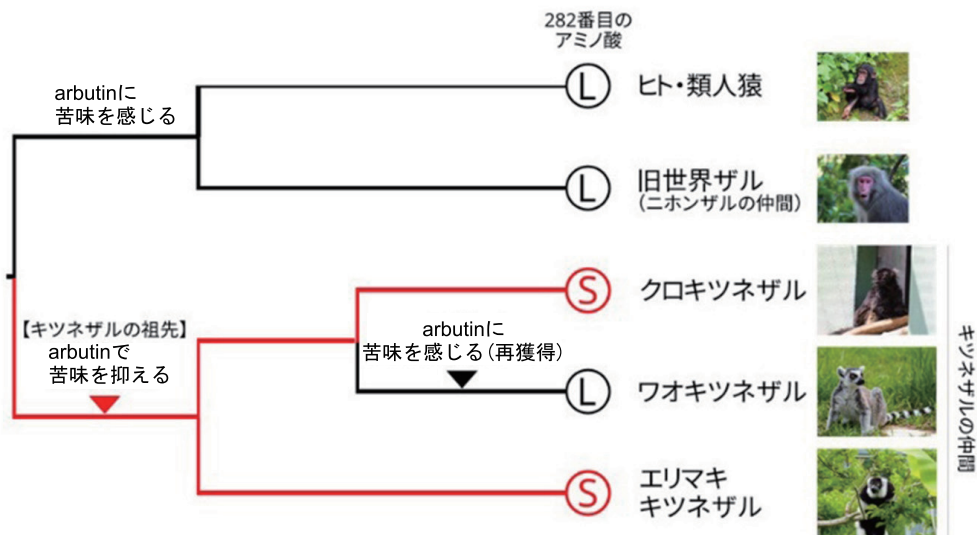


図3 ワオキツネザルにおけるL282の再獲得

霊長類の祖先では282番目のアミノ酸残基はL型でアゴニスト反応を示すと考えられるが、キツネザルの祖先でこの部位に282Sとなる変異が起こり、arbutinに対してインバースアゴニスト反応を示すようになった。ワオキツネザルでは282Lとなる変異が再び起こったと考えられる。

ら、様々な霊長類で TAS2R38 の変異が発見されてきた⁹⁾。

チンパンジーは東、中央、西等の亜種が存在するが、TAS2R38 の開始コドンの変異は西亜種に偏っているようである^{10) 11)}。この結果は約 50 万年前にチンパンジーの亜種が分岐してから西亜種特異的に変異が発生し拡散してきたことを示唆している。また、我々はニホンザルでも同様の変異 (ATG → ACG) を発見した¹²⁾。この変異はニホンザルと近縁の中国のアカゲザルには見られないことから、ニホンザルが約 50 万年前にアカゲザルと分岐して以降に変異が生じたことが示唆される。さらにニホンザルの場合は、特に non-taster 個体の生息域が紀伊半島の一部領域に限られていることから、変異の発生は更に最近であり、環境との関連も示唆されている¹⁾。

インドネシアのスラウェシ島には 7 種のマカクザルが種分化して生息している。それぞれの生息地域は気候や植生も異なるため、種分化には食行動などの環境適応が関係していると考えられる。我々は苦味受容体

TAS2R38 の多様性を 4 種のスラウェシマカク (*Macaca nigra*, *M. nigrescens*, *M. heki*, and *M. tonkeana*) で比較し、行動実験とあわせてその機能を検討した¹³⁾。*Macaca nigra*, *M. nigrescens* では TAS2R38 が偽遺伝子化した個体が存在していて、行動実験でも TAS2R38 のリガンドである PTC を拒絶しなかった。*M. heki* ではすべての個体が PTC を拒絶し、TAS2R38 遺伝子にも目立った変異はなかった。興味深いことに *M. tonkeana* では PTC を拒絶する個体と拒絶しない個体が混在し、TAS2R38 遺伝子は見かけ上機能的なタンパク質をコードしているように見えた。TAS2R38 タンパク質の機能を培養細胞を用いて検討した結果、*M. tonkeana* では 3 カ所の変異をもつ遺伝子からコードされるタンパク質が PTC 低感受性を示した。この結果はヒトの PTC 感受性の個人差が 3 カ所のアミノ酸残基の変異によることと類似している。このようにスラウェシマカクは共通祖先から分岐する際に、種特異的な遺伝子変異を伴って食性を変化させていることが示唆された (図 4)。

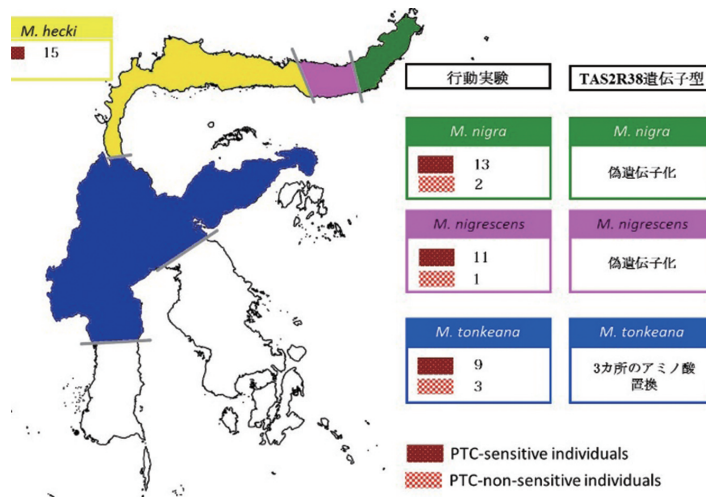


図 4 スラウェシマカクにおける TAS2R38 の機能分化
それぞれの種ごとに PTC 感受性が減弱した個体が存在し、遺伝的原因も異なる。

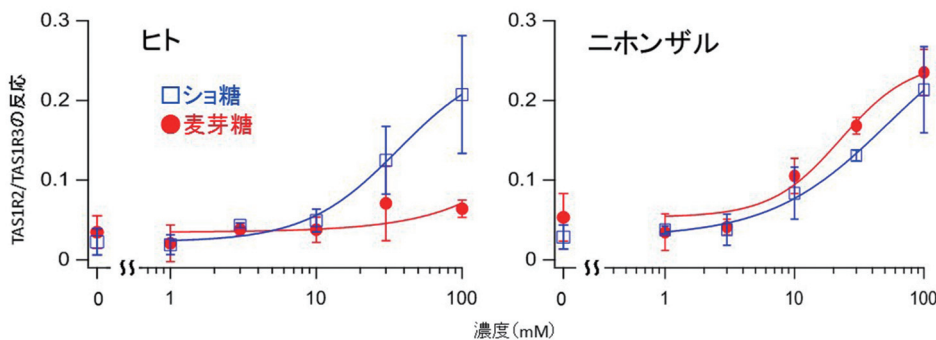


図 5 ニホンザルとヒトの TAS1R2/TAS1R3 の反応性
ニホンザル TAS1R2/TAS1R3 は麦芽糖に対してシヨ糖と同程度に反応する。

霊長類の食行動と味覚受容体の進化

葉食に特化したコロブス類でも TAS2R38 の機能低下が観察された¹⁴⁾。インドネシアボゴール農科大学との共同研究により、4 種のコロブスに対して PTC の感受性をテストした結果、コロブス類はすべて PTC を含むリンゴを拒絶しなかった。受容体の活性を検討した結果、すべてのコロブス類でマカク類に比べて PTC に対する反応性が低かった。進化的背景を検討するために、コロブス類特異的変異がある 4 カ所のアミノ酸残基の効果を検討した。この 4 カ所をそれぞれ変えたニホンザルの TAS2R38 の変異体を検討した結果、それぞれの変異体で反応性の低下を観察することができた。これらの組み合わせにより、コロブスとマカク類の違いが説明できると期待される。

甘味受容体 TAS1R2/TAS1R3

霊長類の甘味受容体 TAS1R2/TAS1R3 については、まずニホンザルの TAS1R2/TAS1R3 の機能解析系を構築し、機能をヒトの受容体と比較検討した。様々な天然の糖に対する反応性を検討した結果、ニホンザルでは麦芽糖に対してヒトよりも敏感であることを見いだした¹⁵⁾。

すなわち、ショ糖や果糖に対してはニホンザル TAS1R2/TAS1R3 はヒトと同様に反応するが、ヒト TAS1R2/TAS1R3 では非常に弱くしか反応しない麦芽糖に対しても、ニホンザルではショ糖と同様に反応する。また、行動実験でもこうした結果が裏付けられたことから、ニホンザルはヒトと同様に糖類を好むが、中にはヒトよりも敏感な糖もあることがわかった。

さらに、コロブス類に対しても TAS1R2/TAS1R3 の機能を検討した¹⁶⁾。TAS2R38 の機能が減弱しているのと同様に、コロブス類の TAS1R2/TAS1R3 はどんな糖に対しても反応を示さなかった。細胞膜上に受容体の抗体反応は観察されるため、蛋白質自身は作られて

いると考えられるが、糖以外のアミノ酸や苦味物質等に対しても反応は見られない。また、行動実験によってもこの結果は裏打ちされた(図6)。今後、どのような物質がコロブス類の TAS1R2/TAS1R3 を活性化するのか検討することにより、葉食に特化したこれらの種が特異的な葉¹⁷⁾を選択するメカニズムがわかるかもしれない。

おわりに

これまで味覚受容体の機能を検討してきたが、最近では味覚受容体が身体の様々な部位に発現していることが示されている。このことは、味覚受容体は味覚だけでなく、身体の内外の様々な化学情報を受容していることを示唆している。例えば我々は、マカク類やマーモセット類を主な対象として、味覚情報伝達に関わる遺伝子の部位や時間変化を検討してきた。その結果、消化器系での味覚情報伝達関連分子の発現パターンが種間で異なることがわかった。具体的には、マーモセットでは舌に比べて盲腸と大腸で味覚受容体やその下流分子 (gustducin, TRPM5) の発現量が非常に多いのに対して、ニホンザルではヒトやマウスで報告されているのと同様にそれほど多くはない。この結果を、免疫染色法を用いてタンパク質・細胞レベルで確認した結果、確かに盲腸の一部の細胞が味覚受容体と gustducin を共発現していることがわかった¹⁸⁾。現在、さらに細胞種(内分泌細胞、タフト細胞等)と発現している受容体の特定を進めているところであるが、味覚受容体の機能多様性は味覚だけでなく、様々な生理反応に参与する可能性が考えられる。

以上、様々な霊長類は、それぞれ特有の味覚を持っていることがわかってきた。最後に本論文に記した研究は、霊長類研究所ゲノム進化分野の新旧メンバーやそれぞれの共著者と共に、科学研究費補助金(15H05242、18H04005、19K21586)、独立行政法人日本学術振興会の二国間交流事業共同研究、小林国際奨学財団、うま味調味料技術部会等による支援を得て推進してきたものである。この場を借りてお礼を申し上げたい。

文献

- 1) Suzuki-Hashido N, Hayakawa T, Matsui A, Go Y, Ishimaru Y, Misaka T, Abe K, Hirai H, Satta Y and Imai H: Rapid expansion of phenylthiocarbamide non-tasters among Japanese macaques. *PLoS ONE* 10, e0132016 (2015)
- 2) Lossow K, Hübner S, Roudnitzky N, Slack JP, Pollastro F, Behrens M, and Meyerhof W.: Comprehensive analysis of mouse bitter taste receptors reveals different

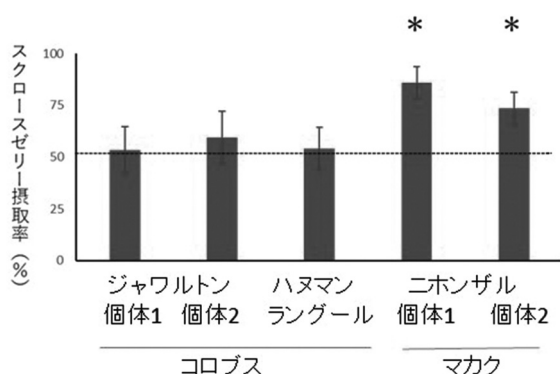


図6 コロブスとニホンザルのショ糖に対する嗜好性
ニホンザルは有意にショ糖を嗜好するが、コロブスでは有意な嗜好性は観察されなかった。

- molecular receptive ranges for orthologous receptors in mice and humans. *J. Biol. Chem.* 291, 15358-15377 (2016)
- 3) Imai H, Suzuki N, Ishimaru Y, Sakurai T, Yin L, Pan W, Abe K, Misaka T, and Hirai H: Functional diversity of bitter taste receptor TAS2R16 in primates. *Biology Letters* 8, 652-656 (2012)
 - 4) Imai H, Suzuki N, Ishimaru Y, Sakurai T, Yin L, Pan W, Abe K, Misaka T, and Hirai H: Amino acid residues of bitter taste receptor TAS2R16 that determine sensitivity in primates to β -glycosides. *Biophysics and Physicobiology* 13, 165-171 (2016)
 - 5) Itoigawa A, Hayakawa T, Suzuki-Hashido N and Imai H. A natural point mutation in the bitter taste receptor TAS2R16 causes inverse agonism of arbutin in lemur gustation *Proc. R. Soc. B* 286, 20190884 (2019)
 - 6) Wooding S: Signatures of natural selection in a primate bitter taste receptor. *J Mol Evol.* 73, 257-265 (2011)
 - 7) Chiarelli B: Sensitivity to PTC (phenyl-thio-carbamide) in primates. *Folia Primatologica* 1, 88-94 (1963)
 - 8) Bufe B, Breslin PA, Kuhn C, Reed DR, Tharp CD, Slack JP, Kim UK, Drayna D, Meyerhof W: The molecular basis of individual differences in phenylthiocarbamide and propylthiouracil bitterness perception. *Current Biology* 15, 322-327 (2005)
 - 9) Wooding S, Bufe B, Grassi C, Howard M, Stone A, Vazquez M, Dunn D, Meyerhof W, Weiss R, Bamshad M: Independent evolution of bitter-taste sensitivity in humans and chimpanzees. *Nature* 440, 930-934 (2006).
 - 10) Sugawara T, Go Y, Udono T, Morimura N, Tomonaga M, Hirai H, Imai H: Diversification of bitter taste receptor gene family in western chimpanzees. *Mol Biol Evol.* 28, 921-931. (2011)
 - 11) Hayakawa T, Sugawara T, Go Y, Udono T, Hirai H, Imai H: Eco-geographical diversification of bitter taste receptor genes (TAS2Rs) among subspecies of chimpanzees (Pan troglodytes). *PLoS ONE* 7, e43277 (2012)
 - 12) Suzuki N, Sugawara T, Matsui A, Go Y, Hirai H, and Imai, H: Identification of non-taster Japanese macaques for a specific bitter taste. *Primates* 51, 285-289 (2010)
 - 13) Widayati KA, Yan X, Suzuki-Hashido N, Itoigawa A, Purba LH, Fahri F, Terai Y, Suryobroto B, Imai H: Functional divergence of the bitter receptor TAS2R38 in Sulawesi macaques. *Ecology and Evolution in press.*
 - 14) Purba LH, Widayati KA, Tsutsui K, Suzuki-Hashido N, Hayakawa T, Nila S, Suryobroto B, Imai H: Functional characterization of the TAS2R38 bitter taste receptor for phenylthiocarbamide in colobine monkeys. *Biology Letters* 13, 20160834 (2017)
 - 15) Nishi E, Tsutsui K, Imai H: High maltose sensitivity of sweet taste receptors in the Japanese macaque (*Macaca fuscata*) *Sci. Rep* 6, 39352 (2016)
 - 16) Nishi E, Suzuki-Hashido N, Hayakawa T, Tsuji Y, Suryobroto B, Imai H: Functional decline of sweet taste sensitivity of colobine monkeys. *Primates* 59, 523-530 (2018)
 - 17) Tsuji Y, Mitani M, Widayati KA, Suryobroto B, Watanabe K: Dietary habits of wild Javan lutungs (*Trachypithecus auratus*) in a secondary-plantation mixed forest: Effects of vegetation composition and phenology. *Mammalian Biology in press.*
 - 18) Gonda S, Matsumura S, Saito S and Imai H.: Expression of taste signal transduction molecules in the caecum of common marmoset. *Biology Letters* 9, 20130409 (2013)

<著者紹介>

今井 啓雄 (いまい ひろお)

- 1991年 京都大学理学部卒業
 1996年 京都大学大学院理学研究科博士後期課程修了
 1996年 日本学術振興会特別研究員
 1999年 京都大学大学院理学研究科生物物理学教室 助手
 2005年 京都大学霊長類研究所 准教授
 2018年 京都大学霊長類研究所 教授 現在に至る

