
畜産動物の有郭乳頭からの味蕾オルガノイド培養系の構築

茨城大学農学部食生命科学科・助教 吉田 悠太

■ 目的

味覚は、動物の摂食行動を制御する重要な化学感覚である。畜産動物の味覚受容機構を明らかにすることは、畜産動物の嗜好性に基づいた飼料設計を可能にし、摂食行動の制御や新規飼料材料の開発に貢献できる。味細胞は寿命が非常に短く、培養法が確立されていなかったが、近年「味蕾オルガノイド」と呼ばれるマウスの味幹細胞の培養法が確立された。本技術を畜産動物に用いることで、畜産動物の味細胞がどのような味覚物質に反応するのか客観的な解析手法を開発できると考えた。そこで本研究では、畜産動物の味蕾オルガノイド培養法を開発を目指して、畜産動物の有郭乳頭の単離、有郭乳頭の形態解析、並びに有郭乳頭に発現する味覚受容体遺伝子の発現解析を実施した。

■ 方法

ウシ(ホルスタイン種)5頭、並びにブタ(LWD三元交雑種)5頭より舌を採材した。有郭乳頭(circumvallate papillae(CVP))、並びに有郭乳頭を含まない非味覚上皮(non-gustatory epithelium(NGE))をトリミングし、RNAprotect Tissue Reagent(QIAGEN, Germany)に浸漬し、 -80°C に保存した。組織解析のため、一部は10%ホルマリンに浸漬した。その後、下記の実験に供した。(1)組織解析：パラフィン包埋したウシ、並びにブタの有郭乳頭を $4\mu\text{m}$ 厚に薄切し、HE染色、または免疫組織化学に供した。(2)定量PCR解析：ウシ、並びにブタのCVP、並びにNGEよりtotal RNAを抽出し、cDNAを合成した。その後、定量PCR解析に供した。

■ 結果および考察

ウシ、並びにブタ有郭乳頭のtrench(溝)に分布する味蕾の構造を形態学的に確認し、免疫組織化学により、ウシ、並びにブタの味蕾における、味蕾に特異的に発現するサイトケラチン8(KRT8)タンパク質の局在を認めた。KRT8は、ウシやブタの味蕾を特異的に標識するバイオマーカーとして利用できることが示唆された。またKRT8に加えて、うま味受容体(T1R1/T1R3)、並びに甘味受容体(T1R2/T1R3)を構成する味覚受容体遺伝子(*T1R1*、*T1R2*、並びに*T1R3*)が、ウシ、並びにブタのCVPにおいて、NGEと比較して有意に高く発現することを確認した。特にブタの有郭乳頭には、他の味覚受容体と比較して甘味受容体サブユニット*T1R2*の高い発現が観察されたことから、ブタの飼料の選択性において甘味が重要な役割を果たす可能性が考えられた。またウシのCVPにおいて、マウスやブタの味蕾には発現しない、反芻動物に特徴的な味覚受容体の発現を見出した。

■ 結語

本研究により、ウシ、及びブタの有郭乳頭における味蕾の分布、形態、バイオマーカー、並びに味覚受容体の遺伝子発現パターンを特徴付けることができ、畜産動物の有郭乳頭からの味蕾オルガノイド培養法を開発する上での基礎的な知見を得ることができた。今回の研究では畜産動物からの味蕾オルガノイド培養法を確立するには至らなかったものの、今後はマウス、ウシ、並びにブタの有郭乳頭を用いて味蕾オルガノイド培養法の確立を進めていく予定である。