

論 文 要 旨

Expression of the basal cell markers of taste buds in the anterior tongue and soft palate of the mouse embryo

〔 マウス胎仔の舌前方部と軟口蓋における
味蕾基底細胞マーカーの発現 〕

中 山 歩

【序論および目的】

哺乳類の味蕾では新しい味細胞が味蕾基底部の未分化な基底細胞から絶えず生み出され、その寿命は平均して 10-14 日である。また、味神経が切断されると味蕾は消失するから、味蕾の維持には味神経支配が必須である。味蕾基底細胞の性質を分子レベルで明らかにすることは、味蕾の形態と機能を維持し味覚を正常に保つメカニズムを知る上で極めて重要である。さらに、胎生期の味蕾の分化、成熟の過程と比較すればこの味蕾のターンオーバーのメカニズムを明らかにできると期待される。しかし、胎生期の味蕾基底細胞の発達過程は明らかになっていない。そこで、本研究では胎生期における味蕾基底細胞の発達過程と味蕾の分布パターン形成の関連性に注目して、味蕾基底細胞マーカー遺伝子として Shh(細胞増殖・分化誘導因子), Prox1(ホメオドメイン型転写因子), Mash1(bHLH 型転写因子)を用い、舌前方部と軟口蓋で味蕾基底細胞が胎生期のいつから分化を開始するかを解析した。特に、口腔内に分布する味蕾のうち軟口蓋味蕾は出生直後に既に機能していることが明らかになっているので、胎生期の軟口蓋の Shh のスポット数と成体の味蕾数を比較し、味蕾分布パターンの決定時期を検討した。さらに、味蕾基底細胞分化への神経支配の関与を調べるために、神経細胞マーカー PGP9.5 を用いて神経支配の開始時期の解析を行った。

【材料および方法】

マウス (C57BL/6J) : 胎生 11.5-16.5 日および成マウスを用いた。

- ・ 味蕾基底細胞の分化開始時期の解析 : Shh と Prox1 のプローブを用いたホールマウント *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。Shh, Prox1, Mash1 が同じ領域で発現しているかを確かめるために切片の二重蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。
- ・ 軟口蓋味蕾の分布パターンの決定時期の解析 : 成マウスの軟口蓋味蕾を抗 gustducin 抗体を用いたホールマウント免疫染色で可視化し、マウス胎仔の軟口蓋領域の Shh スポット数と比較した。
- ・ 味蕾基底細胞分化への神経支配の関与の解析 : 抗 PGP9.5 抗体と抗 Shh 抗体を用いた免疫染色で Shh 発現スポットへの神経の到達時期を解析した。

【結 果】

- ・ 味蕾基底細胞の分化開始時期 :

茸状乳頭領域では、Shh は胎生 11.5 日に舌上皮に広く発現していたが、Prox1 はほとんど検出されなかった。胎生 12.5 日から Shh と Prox1 のスポット状の発現が認められ、こ

これらの発現はほぼ重なっていた。Mash1 を発現する細胞は、胎生 14.5 日から検出された。

軟口蓋領域では、胎生 14.5 日から Shh と Prox1 は Geschmacksstreifen (GS) 領域に帯状の発現と、GS 領域より咽頭側でのスポット状の発現が認められ、これらの発現はほぼ重なっていた。胎生 15.5 日では、スポット数は増加したが、正中部の癒合線上には発現は認められなかった。胎生 16.5 日では、正中部の癒合線上にも発現が認められた。Mash1 を発現する細胞は、胎生 15.5 日から検出された。

・軟口蓋味蕾の分布パターンの決定時期：

胎生期の軟口蓋領域で、GS 領域の Shh の発現は帯状になっており、個々の味蕾の原基として区別することはできないが、GS より咽頭側のスポット状の発現は個々の味蕾の原基に対応していると予想された。そこで、胎生期の Shh を発現するスポット数と成体の軟口蓋味蕾の分布パターンを比較し、味蕾の分布パターンがいつ完成するかを検討した。胎生 14.5 日での Shh を発現するスポットの数は、15.5 日では 2 倍以上に増加した。胎生 16.5 日では、胎生 15.5 日での Shh を発現するスポットの数とほぼ同じであった。成体の軟口蓋の GS より咽頭側では、1 個の味蕾が独立して存在するだけでなく、2-4 個の味蕾が集まって島状に存在していた。胎生 15.5 日、16.5 日の Shh を発現するスポット数は、成体の軟口蓋における GS 以外の味蕾の数より少なかったが、島状に分布する味蕾の集団の数とはほぼ同じであった。

・味蕾基底細胞分化への神経支配の関与：

茸状乳頭領域では、胎生 14 日で上皮基底膜に神経が到達することが明らかにされている。軟口蓋領域では、胎生 14.5 日で Shh を強く発現する上皮細胞の基底膜には神経が到達していたが、Shh を弱く発現する上皮細胞には神経は到達していなかった。胎生 15.5 日では、ほとんどの Shh を発現する上皮基底膜に神経が到達し、一部は上皮内へ侵入していた。胎生 16.5 日では、Shh を発現する上皮にはより多くの神経線維が侵入していた。

【結論と考察】

・味蕾基底細胞の分化開始時期：

茸状乳頭領域では胎生 12.5 日で、軟口蓋領域では胎生 14.5 日で Shh と Prox1 の共発現する細胞のクラスターが認められたことより、味蕾分布パターン形成開始時に Shh を発現するスポットが出現する段階で味蕾基底細胞の分化が始まると考えられる。

・軟口蓋味蕾の分布パターンの決定時期：

Shh を発現するスポット数が胎生 15.5 日から一定となったことより、味蕾の分布パターンは、胎生 15.5 日には決定されると考えられる。また、Shh を発現するスポット数が、成体の GS 以外の味蕾の数より少なかったが、島状に分布する味蕾の集団の数（1-4 個の味蕾からなる）とはほぼ同じであったことより、複数の味蕾が Shh を発現する 1 つのスポットから分化すると考えられる。

・味蕾基底細胞分化への神経支配の関与：

Shh と Prox1 は神経が到達する以前から発現していたのに対し、Mash1 は神経が上皮に到達した後に発現していたことより、味蕾基底細胞は神経に依存せずに分化を開始するが、Mash1 の発現開始は、神経に依存する可能性がある。

・結論：

味蕾基底細胞の分化の開始は神経に依存しないと考えられるが、味蕾の細胞分化が神経に依存せずどこまで進行するかは明らかでない。より長期にわたって培養する方法を確立して、Mash1 の発現の神経依存性や味蕾の細胞分化について解析を進めることが必要である。