

授乳期ラット舌前部の味覚感受性変化

原田 秀逸・金丸 憲一

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科生体機能制御学講座口腔常態解析学分野

Changing in gustatory sensitivity on the rostral part of the tongue in preweanling rats

Shuitsu Harada and Norikazu Kanemaru

Department of Oral Physiology, Division of Functional Biology and Pharmacology, Course of Advanced Therapeutics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences 8-35-1, Sakuragaoka, Kagoshima, 890-8544, Japan

Abstract

Taste bud distribution on the soft palate (SP) and within three types of tongue papillae (fungiform; FF, foliate; FL, and circumvallate; CV) were examined histologically. Also, the integrated taste responses from the rat chorda tympani (CT) nerve were recorded and analyzed at different postnatal ages. At birth, the number of matured SP taste buds preceded to that of FF taste buds, then taste buds within the two loci matured up to 80-90% at 2-weeks. In contrast, no taste buds with a pore were observed at birth within FL and CV, and the number of taste buds gradually increased until 8-weeks. The integrated taste responses magnitudes relative to 0.1 M NH_4Cl from the rat CT were recorded and analyzed. Even at 1 week of age, the CT responded well to all tested 0.1 M mono-chloride salts. The responses to 0.1 M NaCl and LiCl increased with increasing age while response magnitudes to KCl, RbCl, CsCl did not change up to 8 weeks. At 1 to 2 weeks, the integrated response patterns and the concentration-response functions for NaCl, HCl, quinine-HCl and sucrose were essentially the same as those as in the adult rat. The response magnitudes for various sugars increased and reached a maximum at 4-weeks, then decreased gradually with increasing age. Among the six sugars, sucrose was the most effective followed by lactose. The response magnitude to lactose at 4-weeks had decreased compared to that for the other sugars. These results suggest that after one week of age during postnatal development in the rat, taste information from the CT rapidly increases in its importance for feeding behavior.

Key words: taste bud, fungiform papilla, development, preweanling, rat

I. はじめに

ヒトの胎生期は10ヶ月余であり、出生時にはほとんど全ての感覚器官がほぼ完全に機能するまで成熟している。味覚刺激に対する新生児の顔の表情や、唇や舌の動き、頭の動きなどの詳細な観察から、新生児が、甘い、酸っぱい、苦いという味のみならず、うま味も味分けることができることが明らかになっている¹⁾。一方、ラットの胎生期は僅か20日余りで、出生時には視覚は眼瞼が閉じていて機能し得ないし、内耳の諸構造物は未分化で聴覚も機能しないという、ヒトよりも遙かに未熟な状態で生まれ出てくる。しかしながら、出生直後のラットも、licking 行動、口唇の開閉運動、頭の動きの観察から、出生後1日目に既に甘味物質、酸、苦味物質の味刺激に対する識別能力を有しており、味覚系がヒトと同様にほぼ完全に機能していることが明らかになっている²⁾。これらのことから、哺乳動物の新生児（仔）では出生時に生命維持に必須の機能として吸啜運動と併せて味を感じる機能が完成していると考えられる。

解剖組織学的研究によれば、口腔内の特定部位に味蕾が集中して分布しているが、味蕾の出現と成熟はこれらの部位によって異なっている。しかし、出生時の味蕾分布と口腔機能とを関連づけた研究はほとんどなく、特に味蕾の出現と成熟に注目した味覚感受性の変化については十分な研究報告がない。著者らは、この点に着目して出生直後からの味覚感受性との関連について研究を進めており、いくつか新しい知見を得たのでまとめてご紹介したいと思う。

II. 材料および方法

A. 組織学的実験

妊娠したラット (Sprague-Dawley) を別々のケージに飼育し、仔ラットが生まれた日を0日とした。幼若ラットは離乳後は雄雌に分離し別々のケージに数匹ずつ飼育した。0-1, 2, 3, 4, 8-9 週齢の42匹のラットからデータを得た。動物は Nembutal® の腹腔内へ致死量投与により不動化して頭部を切断し、通法に従って完全な10 μ mパラフィン連続切片を作成し、HE染色を施した³⁾。全ての切片の光学像をデジタルカメラで撮影してパソコン (Power Mac 7300, Macintosh) に取り込みプリントアウトして、個々の味蕾について、成熟度の指標としての味孔の有無、大きさ、形、切片上の位置を測定・記録した。

B. 電気生理学的実験

実験には1-8週齢雄ラットを用いた。動物をネンブタール (1ml/kg bw) により麻酔後、鼓索神経を既述の方法⁴⁾により露出し、活動電位を Ag-AgCl 電極により双極誘導で導出し、時定数0.3秒で積分してインク書きレコーダーに描記した。記録装置および味覚刺激装置は既述のもの⁴⁾を使用した。記録した積分応答は基線から応答開始直後のピーク値までの phasic 応答および刺激開始後10秒の tonic 応答の大きさを測定し、0.1M NH₄Cl の phasic 応答量に対する相対値を求めて応答値とした。

III. 出生後のラット味蕾の成熟と分布の発育に伴う変化

哺乳動物の舌および口腔内の味蕾は、大きく5つの部分、すなわち、舌前部の茸状乳頭、葉状乳頭、有郭乳頭、軟口蓋、および咽喉頭・食道上部に集中して分布している^{3,5-12)}。茸状乳頭味蕾は顔面神経の分枝である鼓索神経、葉状乳頭と有郭乳頭味蕾は舌咽神経、軟口蓋味蕾は顔面神経の分枝である大錐体神経、咽喉頭・食道上部の味蕾は迷走神経の分枝である上喉頭神経が支配している。ラットでは、大錐体神経が支配する鼻切歯溝と軟口蓋に分布する味蕾の数は220から227個¹³⁻¹⁴⁾であり、鼓索神経支配の茸状乳頭味蕾数179から187個^{6,14)}に匹敵する。ハムスターでは軟口蓋に88個、茸状乳頭味蕾が130個という報告がある¹⁵⁾。

味蕾の出現と成熟は口腔内の各部分によって大きく異なっていることがラット^{3,9)}、ハムスター⁹⁾、マーモセット¹²⁾で明らかにされている。味蕾が成熟しているかどうか、すなわち機能できるかどうかの指標となる味孔は、走査電顕による研究では1日齢のラット茸状乳頭にたった1個の味孔しか観察できないが、12日齢では72%の茸状乳頭味蕾に味孔が観察されたことが報告されている¹¹⁾。また、1日齢のハムスターの軟口蓋味蕾の39%が味孔を有している⁹⁾。著者らはラット口腔内の味蕾分布の成長変化を調べ、部位による味蕾の分布および成熟の差を明らかにした³⁾。ラットでは、出生時には味孔がある味蕾数と味孔が観察されない味蕾数を併せて100個以上の味蕾が軟口蓋 (126.7 \pm 23.7) および茸状乳頭 (110.3 \pm 13.7) に観察され、味蕾数は1週齢まで急激に増加しほぼ定常のレベルに達した後 (軟口蓋; 273.7 \pm 70.6, 茸状乳頭; 213.7 \pm 44.9), 28-31月齢までほとんど変化しない。一方、有郭 (1.0 \pm 1.4) および葉状乳頭 (3.0 \pm 4.2) には出生時には数個の味蕾しか存在せず、葉状乳頭では8週齢まで味蕾数

は増加を続け 247.0 ± 77.2 個（一側）で定常状態に達したが、有郭乳頭ではその後も増加を続け28-31月齢で 588.7 ± 57.5 個に達した。

さらに、味孔を持つ味蕾の割合をラット部位別に調べた結果³⁾、軟口蓋味蕾は出生時に $52.9 \pm 6.8\%$ もの味蕾が成熟しているが、茸状乳頭味蕾はわずか $12.2 \pm 2.6\%$ であった（図1）。出生後一週の間に、味孔を持つ味蕾の割合は急速に増加し、1週齢で軟口蓋では90%、茸状乳頭では75%に達した（図1）。一方、有郭および葉状乳頭では味孔を持つ味蕾は出生時には0で、その後も成熟の速度は軟口蓋および茸状乳頭味蕾よりも遅く、2-3週齢でも70-80%であり、28-31月齢では口腔内のどの部位においてもほぼ全ての味蕾に味孔が観察された（図1）。

IV. 軟口蓋味蕾の機能と出生時の機能

電気生理学的^{4,16-17)}および行動学的研究¹⁸⁻¹⁹⁾は、軟口蓋味蕾を支配する大錐体神経が甘味物質やアミノ酸などの栄養物の味覚受容に重要な役割を果たしていることを示唆している（図2）。さらに、出生時の軟口蓋味蕾が他の部位に先駆けて成熟していることから、軟口蓋味蕾が授乳期の味覚受容に果たす役割の重要性が示唆される。

一方、出生時のラットでは有郭および葉状乳頭に味孔を持つ味蕾が観察されず、成熟した味蕾の割合は軟

口蓋および茸状乳頭味蕾よりも2-3週間遅れて増大する。また、ラット有郭乳頭の味孔を持つ味蕾は出生時には認められず、味孔を持つ味蕾は10日齢で観察されること²⁰⁾が報告されている。さらに、出生時にはハムスター有郭および葉状乳頭にはほとんど味蕾が観察されないが、71日齢では121個、120日齢で150個の味蕾が観察される¹⁵⁾。これに対して、ラット鼓索神経支配の茸状乳頭味蕾は前述のように軟口蓋味蕾よりも1週間程度遅れて成熟するし、次項で述べるように鼓索神経は出生時には十分に機能していないようである。

V. ラット茸状乳頭味蕾の機能変化

新生ラットの軟口蓋味蕾の味孔の開口率は53%以上であるのに対して、茸状乳頭味蕾の味孔の開口率は14%以下であった^{3,11)}。茸状乳頭味蕾の成熟の経過と、2-3日齢のラット鼓索神経からは再現性のある安定した応答が得られない²⁰⁾ことから、1週齢以前では鼓索神経は十分な味覚情報を媒介しないと推測される。

著者らは、出生後1週間に成熟した茸状乳頭味蕾の数は急速に増加し80%にまで達することを明らかにした³⁾。1週齢になると0.5 M NH_4Cl および0.1 M クエン酸に対する神経応答²⁰⁾、0.1 M 各種塩類と0.01 M HCl に対する安定した積分応答²¹⁾が記録可能になることから、ラット鼓索神経は出生後最初の1週間の間に中枢への味覚情報を媒介するのに十分に成熟している

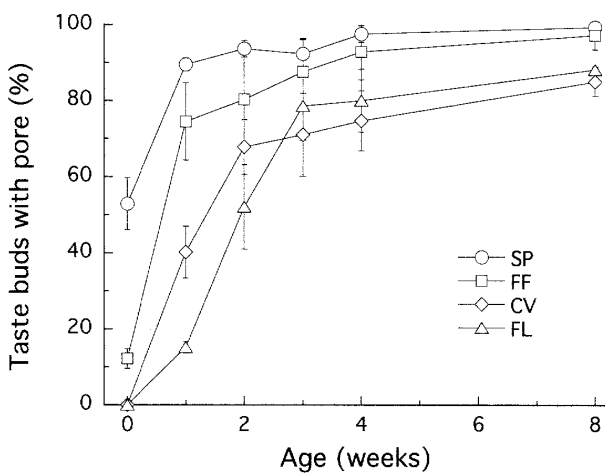


図1 出生後のラットの発育に伴う味孔を持つ味蕾数の割合(%)の成長に伴う変化。

w: 週齢。SP: 軟口蓋, FF: 茸状乳頭, CV: 有郭乳頭, FL: 葉状乳頭。3匹の平均値で、エラーバーはSDを示す。(Harada et. al 2003³⁾から)

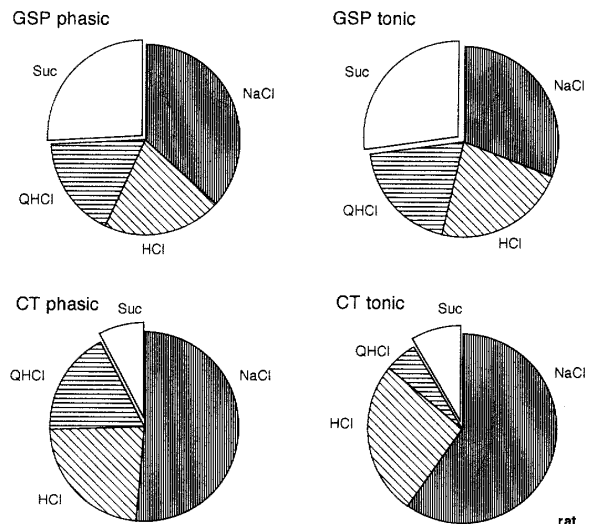


図2 蔗糖(Suc)、食塩(NaCl)、塩酸(HCl)、塩酸キニーネ(QHCl)に対するラット大錐体神経(GSP)と鼓索神経(CT)積分応答量の比較。

左側はphasic応答、右側はtonic応答。(Harada 1994³⁴⁾, Figure 6を改編)

と考えられる。

ラット鼓索神経の NH_4Cl に対する応答は出生後早い時期に安定する²²⁻²⁴⁾。しかしながら、 NaCl および LiCl に対する鼓索神経応答は1から5週齢にかけて成長に伴って増加しており、これはアミロライド感受性線維の増加によることが明らかにされている^{20, 24-25)}。同様に1-8週齢まで、 0.1M KCl , RbCl , および CsCl に対する応答を 0.1M NH_4Cl に対する相対的な応答値と比較すると、相対応答値ほとんど変化しないが、 0.1M NaCl および LiCl に対する相対応答値は週齢の増加と共に増加する²¹⁾。さらに、成長期のラット単一神経線維の NH_4Cl に対する応答のインパルス頻度は変化しないが NaCl および LiCl に対するインパルス頻度は増加する²⁶⁾。

また、様々な糖刺激に対して1週齢ラットでも、識別できる十分な大きさの積分応答が得られる²¹⁾。興味深いことに、 0.1M NH_4Cl に対する相対的な応答値と比較すると糖応答は3から4週齢まで増加し、その後成長するにしたがって減少する。この糖応答の成長に伴う減少は 0.1M NH_4Cl 応答の増大によって相対的に減少するのではない。なぜなら、 0.01M HCl と QHCl に対する応答は同じ期間にほとんど変化しないからである。したがって、糖応答の減少は糖感受性線維数の減少か、味覚受容細胞の受容サイト数の減少によると考えられる。ラットにおける鼓索神経の糖応答性の減少は大錐体神経の大きな糖応答性で補填されう

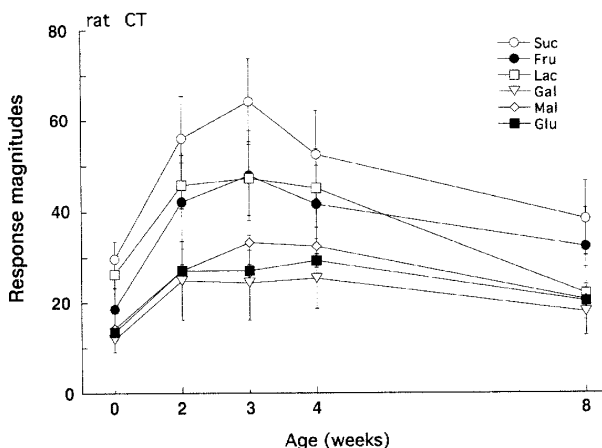


図3 6種の糖に対するラット鼓索神経積分応答の発達に伴う変化。

応答量は 0.1M NH_4Cl に対する相対値。 $n=5$ 。エラーバーはSD。(Harada and Maeda 2004²¹⁾から)

る^{4, 15-16, 27)}。一方、ハムスターでは蔗糖とマルトースに対する濃度-応答曲線は14-35日齢では差がないのに、55-73日齢では増加しており²⁷⁾、ラットとハムスターでは成長に伴う糖応答性の変化に種差があることを示している。

様々な実験結果²⁸⁻³⁰⁾によって、糖とサッカリンは受容体が異なることが示唆されている。また、電気生理学的な交差順応実験によって、成ラットと同様に幼若な2週齢ラットでも糖受容サイトはそれぞれの糖について独立していることが分かった²¹⁾。このことは、各糖に対する受容サイトは成長に伴って分離していくのではなく、発達の初期に既に独立しており、吸啜行動で各種の糖を識別できる可能性を示唆している。

離乳前に、ラット鼓索神経のラクトースに対する味覚応答量は蔗糖のそれと同じである(図3)。また、授乳期にはラクトース応答量は他の糖に対する応答よりも有意に大きいが、離乳後は減少してフルクトースと順位が入れ替わる(図3)。このラクトース応答量の変化は離乳後にラクトース受容サイトの数が減少することを示唆しているが、腸管のラクターゼの合成および活性の変化と相関しており³¹⁻³²⁾、ラクトースに対する味覚変換に関与するタンパク質の減少と関連しているのかもしれない。一方、マウスでは糖やアミノ酸の鼓索神経応答は成長に伴って変化しないが、グルタミンに対する応答は7-10日齢よりも8-16週齢は有意に小さい³³⁾。これらの結果は同じ味質に対しても種によって異なる成長変化を辿ることを示している。

以上述べてきたことをまとめると、1) 哺乳類では出生時に味覚が正常に機能し、軟口蓋に分布する味蕾が重要な役割を果たすと考えられる、2) 軟口蓋味蕾に続いて舌前部の茸状乳頭味蕾の数が増え成熟する、3) 授乳期に口腔内の各部の味蕾は急速に数を増し成熟する、4) 部位によって成長と共に特定の味覚刺激に対する感受性の変化が異なる、ということになる。これらの末梢受容器レベルの味覚情報が中枢でどのように処理されているのかについてはほとんど明らかになっていない。中枢の味覚情報処理系が発達初期にどのように構築され発達していくのか非常に興味深い所であり、今後さらに研究を進めて行きたい。

文 献

- Steiner, J. E.: The gustofacial response: Observations on normal & anencephalic newborn infants., In: Fourth Symposium on Oral Sensation and Perception (Bosma JF eds), Bethesda, MD, U. S. Dept. H. E. W.,

- pp. 254-278, 1973
- 2) Ganchrow, J. R., Steiner, J. E. & Canetto S: Behavioral displays to gustatory stimuli in newborn rat pups. *Develop. Psychobiol.* 19, 163-174, 1986
 - 3) Harada, S., Yamaguchi, K., Kanemaru, N. & Kasahara, Y.: Maturation of taste buds on the soft palate of the postnatal rat. *Physiol. Behav.* 68, 333-339, 2000
 - 4) Harada, S., Yamamoto, T., Yamaguchi, K. and Kasahara, Y.: Different characteristics of gustatory responses between the greater superficial petrosal and chorda tympani nerves in the rat. *Chem. Senses* 22, 133-140 (1997)
 - 5) Farbman, A. I.: Electron microscopic study of the developing taste bud in rat fungiform papilla. *Develop. Biol.* 11, 110-135, 1965
 - 6) Fish, H. S., Malone, P. D. & Richter, C. P.: The anatomy of the tongue of the domestic Norway rat. I. The skin of the tongue; the various papillae; their number and distribution. *Anat. Rec.* 89, 429-440, 1944
 - 7) Guth, L.: The effects of glossopharyngeal nerve transection on the circumvallate papilla of the rat. *Anat. Rec.* 128, 715-731, 1957
 - 8) Lalonde, E. R. & Eglitis, J. A.: Number and distribution of taste buds on the epiglottis, pharynx, larynx, soft palate and uvula in a human new born. *Anat. Rec.* 181, 91-95, 1957
 - 9) Belecky, T. L. & Smith, D. V.: Postnatal development of palatal and laryngeal taste buds in the hamster. *J. Comp. Neurol.* 293, 646-654, 1990
 - 10) Hosley, M. A. & Oakley, B.: Postnatal development of the vallate papilla and taste buds in rats. *Anat. Rec.* 218, 216-222, 1987
 - 11) Mistretta, C. M.: Topographical and histological study of the developing rat tongue, palate and taste buds., In: *Oral Sensation and Perception III*, (Bosma, J. F. ed), Charles C. Thomas, Springfield, pp. 163-187, 1972
 - 12) Yamaguchi, K., Harada, S., Kanemaru, N. & Kasahara, Y.: Age-related alteration of taste bud distribution in the common marmoset. *Chem. Senses* 26, 1-6, 2001
 - 13) Kaplick, M.: Concerning the presence, distribution, & histological aspects of the taste buds on the roof of the mouth of certain mammals, especially rodents. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.* 38, 571-590, 1953
 - 14) Miller, I. J.: Gustatory receptors of the palate. *Food Intake & Chemical Senses (Int. Symp. on Food Intake & Chem. Senses)* Univ. Tokyo Press, pp.173-185, 1977
 - 15) Miller, I. J. & Smith, D. V.: Quantitative taste bud distribution in the hamster. *Physiol. Behav.* 32, 275-285, 1984
 - 16) Harada, S. & Smith, D. V.: Gustatory sensitivities of the hamster's soft palate. *Chem. Senses* 17, 37-51, 1992
 - 17) Nejad, M. S.: The neural activities of the greater superficial petrosal nerve of the rat in response to chemical stimulation of the palate. *Chem. Senses* 11, 283-293, 1986
 - 18) Krimm, R. F., Nejad, M. S., Smith, J. C., Miller, I. J. & Beidler, L. M.: The effect of bilateral sectioning of the chorda tympani and the greater superficial petrosal nerves on the sweet taste in the rat. *Physiol. Behav.* 41, 495-501, 1987
 - 19) Harada, S.: Effects of transection of the greater superficial petrosal and the chorda tympani nerves on conditioned taste aversion to sucrose in the hamster. *Jpn. J. Oral Biol.* 34, 690-700, 1992
 - 20) Hill, D. L. & Almili, C. R.: Ontogeny of chorda tympani nerve responses to gustatory stimuli in the rat. *Brain Res.* 197, 27-38, 1980
 - 21) Harada, S. & Maeda, S.: Developmental changes in sugar responses of the chorda tympani nerve in preweanling rats, *Chem. Senses*, 29, 209-215, 2004
 - 22) Yamada, T.: Chorda tympani responses to gustatory stimuli in developing rats. *Jpn. J. Physiol.* 30, 631-643, 1980
 - 23) Hill, D. L. & Bour, T. C.: Addition of functional amiloride-sensitive components to the receptor membrane: a possible mechanism for altered taste response during development. *Develop. Brain Res.* 20, 310-313, 1985
 - 24) Hendricks, S. J., Stewart, R. E., Heck, G. L., DeSimone, J. A. & Hill, D. L.: Development of rat chorda tympani sodium responses: Evidence for age-dependent changes in global amiloride-sensitive Na⁺ channel kinetics. *J. Neurophysiol.* 84, 1531-1544, 2000
 - 25) Ninomiya, Y., Tanimukai, T., Yoshida, S. & Funakoshi, M.: Gustatory neural responses in preweanling mice. *Physiol. Behav.* 49, 913-918, 1991
 - 26) Hill, D. L., Mistretta, C. M. & Bradley, R. M.: Developmental changes in taste response characteristics

- of rat single chorda tympani fibers. *J. Neurosci.* 2, 782-790, 1982
- 27) Hill, D. L.: Development of chorda tympani nerve taste responses in the hamster. *J. Comp. Neurol.* 268, 346-356, 1988
- 28) Iwasaki, K. & Sato, M.: Inhibition of taste nerve responses to sugars and amino acids by cubric and zinc ions in mice. *Chem. Senses* 11, 79-88, 1986
- 29) Vlahopoulos, V. & Jakinovich, W.: Antagonism of the gerbil's sucrose taste response by p-nitrophenyl D-glucopyranoside and chloramphenicol. *J. Neurosci.* 6, 2611-2615, 1986
- 30) Faurion, A. & Vayssettes-Courchay, C.: Taste as a high discriminative system: a hamster intrapapillar single unit study with 18 compounds. *Brain Res.* 512, 317-332, 1990
- 31) Tsuboi, K. K., Kwong, L. K., Neu, J. & Sunshine, P.: A proposed mechanism of normal intestinal lactase decline in the postweaned mammal. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 101, 645-652, 1981
- 32) Johanson, I. B. & Shapiro, E. G.: Intake and behavioral responsiveness to taste stimuli in infant rats from 1 to 15 days of age. *Develop. Psychol.* 19, 593-606, 1986
- 33) Ninomiya, Y., Kajiura, H. & Mochizuki, K.: Differential taste responses of mouse chorda tympani and glossopharyngeal nerves to sugars and amino acids. *Neurosci. Lett.* 163, 197-200, 1993
- 34) Harada, S.: Gustatory system of the soft palate in mammals, *Annals of Kagoshima University Dental School* 14, 25-41, 1994