

魚類の味蕾の構造の多様性に関する組織化学的研究

池永隆徳・中村達史

Histochemical Analysis of the Taste Bud Structure in Fish

IKENAGA Takanori and NAKAMURA Tatsufumi

鹿児島大学大学院理工学研究科

Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University

要旨

脊椎動物において味覚における末梢器官は味蕾である。味蕾の味細胞において受容された情報はシナプスを介して神経線維へと伝えられる。哺乳類において、ある特定の種類の味細胞がセロトニンを神経伝達物質として利用していることが知られているが、他の脊椎動物においてはセロトニンを含有する細胞の種類に大きな違いが見られる。今回、軟骨魚類、および様々な種類の条鰭魚類の味蕾におけるセロトニンを含む細胞の分布と形態を、免疫組織化学法を用いて調べた。その結果、軟骨魚類以外のいずれの種においてもセロトニン免疫陽性の細胞は味蕾の基底部に位置していた。一つの味蕾におけるセロトニン免疫陽性の基底細胞の数は真骨魚類のゴンズイでは一つであったが、他の魚種では複数あり、違いが見られた。

はじめに

脊椎動物の末梢組織で味覚の感覚器官は味蕾であり、無顎類のヤツメウナギから哺乳類まで見られる。味蕾はフラスコ状の形態をしており、哺乳類においては化学受容器細胞（味細胞）、支持細胞、および将来味細胞に分化する基底細胞から構成される。真骨魚類及び両生類の味蕾においては、これらの細胞に加えて味蕾の基底部に触覚に応答するメルケル細胞様の細胞が存在することが知られている（清原 2002）。味細胞で受容された情報はシナプス伝達を介して感覚神経へと伝達される。哺乳類では、ATP やセロトニンがこの神経伝達物質として機能していると考えられている（ROPER 2013）。哺乳類では味細胞の一部がセロトニンを有する。他の脊椎動物では、ヤツメウナギでは紡錘型の味細胞様の細胞でセロトニン免疫陽性反応がみられるのに対し（BARREIRO-IGLESIAS *et al.* 2008）、両生類と一部の真骨魚類ではメルケル細胞様の基底細胞がセロトニン免疫陽性である（BARLOW *et al.* 1996, KIRINO *et al.* 2013）。本研究では、条鰭類のうち真骨魚類（ゴンズイ、ゼブラフィッシュ、メダカ）、全骨類（ガー）、ポリプテルス、および軟骨魚類の味蕾におけるセロトニンを含む細胞の分布と形態を免疫組織化学法によって解析した。

方法

実験にはゴンズイ (*Plotosus japonicus*)、ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)、メダカ (*Oryzias latipes*)、スポットテッドガー (*Lepisosteus oculatus*)、ポリプテルスセネガルス (*Polypterus senegalus*)、アブラツノザメ (*Squalus acanthias*) を用いた。ゴンズイは鹿児島湾で岸から網により採集した。ゼブラフィッシュとメダカは研究室で継代している野性型の系統を使用した。スポットテッドガーおよびポリプテルスセネガルスは業者より購入した。アブラツノザメは東シナ海において底引き網によって採集した。魚を 4% のパラホルムアルデヒド溶液で固定し、口腔部の上皮を採取した。ゴンズイでは触鬚や鰭および胴体の上皮も採取した。これらの組織に対して、抗セロトニン抗体 (ImmunoStar) 及び、味蕾の細胞のマーカーとして知られている抗カルレチニン抗体 (Swant) を用いた二重蛍光免疫組織化学法を施した。共焦点レーザー顕微鏡 (A1si-90i, Nikon) で組織の表層からの像を観察した後、一部の組織は凍結マイクロームによって切片を作成し、味蕾の横断面の像を観察した。

結果と考察

抗カルレチニン抗体を用いた免疫組織化学法の結果、ゴンズイにおいて触鬚、口腔内の組織、鰭 (胸鰭、背鰭、尾鰭)、および胴体部のいずれの組織においても、味蕾を可視化することができた。同じ標本を異なる蛍光フィルターを用いて観察した結果、セロトニン免疫陽性の細胞は、各味蕾において一つずつ確認できた。横断切片を作成して観察した結果、セロトニン免疫陽性細胞は味蕾の基底部に位置していることが明らかとなった。従って、これらのセロトニン免疫陽性細胞は基底細胞であると考えられる。同じ真骨魚類であるゼブラフィッシュとメダカの口腔内の味蕾においても、セロトニン免疫陽性細胞は味蕾の基底部に観察された。同様の実験をガーおよびポリプテルスにおいても行った結果、各味蕾においてセロトニン免疫陽性細胞の存在が確認された。一つの味蕾におけるセロトニン免疫陽性細胞の数はガーで 2~4 個、ポリプテルスで 11~16 個と、真骨魚類であるゴンズイとは異なっていた。横断切片の観察の結果、両種においてセロトニン免疫陽性細胞は味蕾の基底部に位置しており、これらの細胞はゴンズイと同様に基底細胞であると考えられる。アブラツノザメの口腔内組織の上皮に対しても同様の実験を行った結果、抗セロトニン抗体によって標識された細胞が集団を形成しているのが観察された。横断切片の観察の結果、これらの細胞は表層より深い位置に分布していた。しかしながら、アブラツノザメの標本においては抗カルレチニン抗体によって標識された構造は観察されなかった。このため、抗セロトニン抗体によって標識された細胞が味蕾の基底細胞であるかの判断は困難であった。

今回の実験により、真骨魚類及び条鰭類の中でも進化的に古い系統であるガーやポリプテルスの味蕾におけるセロトニン免疫陽性細胞の組織学的な特徴が明らかとなった。いずれの魚種においても基底細胞がセロトニンを含有していることが示されたが、その数は大きく異なっていた。今回実験に用いたアブラツノザメの標本は、免疫組織化学法を施すまでに固定液に浸漬していた時間が長かったため、良好な結果が得られなかった可能性があり、適切な固定を施した標本を用いて再度の実験を行う必要がある。今回は厳密な結果が得られ

ていないが、このアブラツノザメの結果と他の魚種での結果を考慮すると、軟骨魚類から真骨魚類への進化の過程でセロトニン免疫陽性の基底細胞の数が減少している可能性が考えられる。現在のところ基底細胞の機能は不明であり、このような数の違いと機能的意義との関係は興味深い。今後、軟骨魚類を含めたより多様な魚種、およびこれまで味蕾の存在が報告されていない無顎類のヤツメウナギにおいても同様の実験を進めることで、脊椎動物の味覚系の多様性についてさらなる知見を得ることができると思われる。

謝辞

今回の実験に用いたアブラツノザメの標本は本学水産学部練習船かごしま丸において採集された。採集にご協力いただいた乗組員の皆様、および水産学部江幡恵吾先生に深く感謝いたします。

引用文献

- BARLOW, L. A., CHIEN, C. B. and NORTH CUTT, R. G. 1996. Embryonic Taste Buds Develop in the Absence of Innervation. *Development*, 122: 1103-1111.
- BARREIRO-IGLESIAS, A., VILLAR-CERVIÑO, V., VILLAR-CHEDA, B., ANADÓN, R. and RODICIO, M. C. 2008. Neurochemical Characterization of Sea Lamprey Taste Buds and Afferent Gustatory Fibers: Presence of Serotonin, Calretinin, and CGRP Immunoreactivity in Taste Bud Bi-ciliated Cells of the Earliest Vertebrates. *Journal of Comparative Neurology*, 511: 438-453.
- KIRINO, M., PARNES, J., HANSEN, A., KIYOHARA, S. and FINGER, T. E. 2013. Evolutionary Origins of Taste Buds: Phylogenetic Analysis of Purinergic Neurotransmission in Epithelial Chemosensors. *Open Biology*, 3: 130015.
- 清原貞夫 2002. 魚類の味覚—その多様性と共通性から見る進化. 「魚類のニューロサイエンス—魚類神経科学研究の最前線—」(植松一眞・岡 良隆・伊藤博信編), 58-76, 恒星社厚生閣, 東京.
- ROPER, S. D. 2013. Taste Buds as Peripheral Chemosensory Processors. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 24: 71-79.