

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 31日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791793

研究課題名（和文） 味蕾分化過程における味蕾基底細胞の機能の解明

研究課題名（英文） Function of the basal cells of taste buds during taste bud development

研究代表者

中山 歩 (NAKAYAMA AYUMI)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・助教

研究者番号：10398290

研究成果の概要（和文）：

本研究課題では、味蕾基底細胞マーカーと味細胞分化への関与が報告されている Sox2 の関連性、有郭乳頭における味蕾基底細胞マーカーの発現開始時期を解析した。その結果、1) 茸状乳頭、有郭乳頭、軟口蓋味蕾の分化開始は、Shh, Sox2 が味蕾原器に限局する前であっても Prox1 を発現する細胞の出現で示され、この細胞が味蕾へと分化すること、2) 有郭乳頭での味蕾基底細胞マーカーの発現は、乳頭上部が乳頭溝に先行することが示された。

研究成果の概要（英文）：

The relationship between the basal cell markers and Sox2, and timing of the basal cell marker appearance during development of the circumvallate papillae were analyzed. The results suggest that: 1) the beginning of taste bud development may be indicated by Prox1 expression before the expression of Shh and/or Sox2 is focused to taste bud primordia, 2) during the CV development, the onset of the basal cell marker expression in the apical epithelium precedes that in the trench wall.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：味覚、味蕾、細胞分化、発生、転写制御因子、マウス

1. 研究開始当初の背景

哺乳動物では生まれ出てくると同時に口からの栄養摂取を行う必要性が生じる。そのため、新生児はミルクを吸う吸啜反射の機能に併せて、吸乳行動の調節に重要な味を感じるほぼ完成された機能を備えている。味覚の終

末器官である味蕾を構成する細胞は約 10 日の周期でターンオーバーしている。マウスの腹腔内に投与した BrdU は、味蕾ではまず基底部の細胞に一過性に検出され、ついで味蕾内の伸長した細胞に検出される。このことは、味蕾基底細胞が味蕾内の伸長した細胞へと

分化していることを示している。そのため、味蕾基底細胞の性質を明らかにすることは味蕾が正常に維持されるメカニズムを解明する上で非常に重要である。成マウスの味蕾では、細胞分化・増殖の誘導因子である *Shh* が基底部に限局して発現し、homeodomain 型転写因子 *Prox1* は味蕾全体に弱く発現するが、基底部で強く発現し、*Shh* と共発現する。また、bHLH 転写因子 *Mash1* は、成マウスの味蕾基底部において一部 *Shh* と共発現する。本研究代表者は、生直後のマウスの有郭乳頭において、すでに *Shh* と *Prox1* の発現が認められるという知見に基づき (Miura et al., 2003)、これらの遺伝子を発現する細胞の分化は胎生期に始まるのではないかと考え、解析を行った。その結果、茸状乳頭では胎生 12.5 日に、軟口蓋では胎生 14.5 日に *Shh* と *Prox1* の共発現する細胞が出現すること、また、このステージは味神経が上皮に到達する前であったことから、味蕾基底細胞マーカーを発現する細胞の分化開始には神経が関与しないことを明らかにした (図 1)。一方で、*Mash1* の発現は神経が到達した後に発現することから、*Mash1* の発現開始は神経に依存する可能性が示唆された (図 2)。しかし、有郭乳頭においては味蕾基底細胞マーカーを発現する細胞がいつ分化するかは明らかでなかった。また、近年 *Sox2* (SRV-related HMG box 型転写因子) が味蕾の発生に必要な因子とされ、*Sox2* を強く発現する細胞が味蕾細胞に分化すると報告されているが、味蕾発生から成熟味蕾にかけて、味蕾基底細胞マーカーを発現する細胞との関連性も明らかでなかった。

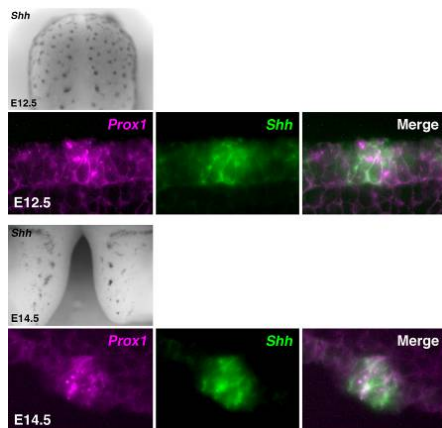


図 1 胎生期の *Prox1* と *Shh* の発現
(Nakayama et al., 2008)

胎生 12.5 日の茸状乳頭 (上図)
胎生 14.5 日の軟口蓋領域 (下図)

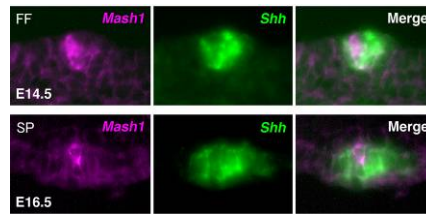


図 2 胎生期の *Mash1* の発現
(Nakayama et al., 2008)

胎生 14.5 日の茸状乳頭 (上図)
胎生 16.5 日の軟口蓋領域 (下図)

2. 研究の目的

本研究では、味蕾の分化に焦点を置き、下記 2 点を解析することを通じて、味蕾分化のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

- ①有郭乳頭、茸状乳頭、軟口蓋領域における味蕾基底細胞マーカーと *Sox2* の関連性
- ②有郭乳頭における味蕾基底細胞マーカーの発現開始時期

3. 研究の方法

胎生 12.5-18.5 日、成体の C57BL/6 マウスを用いた。各ステージの茸状乳頭、有郭乳頭、軟口蓋領域を摘出後、組織切片を作製した。茸状乳頭、軟口蓋領域については、*Prox1* と *Sox2* の発現パターンを免疫染色で解析し、有郭乳頭については、*Shh*、*Prox1*、*Mash1*、*Sox2* の発現パターンを *in situ hybridization* あるいは免疫染色で解析した。

4. 研究成果

- (1) 茸状乳頭、軟口蓋領域における味蕾基底細胞マーカーと *Sox2* の関連性の解析

舌前方部での *Sox2* は、胎生 12.5 日で舌上皮に広く発現し、味蕾原器では強く発現しており、この発現は *Prox1* と共発現していた。一方、軟口蓋領域では、胎生 14.5 日で *Prox1* は味蕾原器に限局して発現していたが、*Sox2* は上皮に広く発現しており、味蕾原器には限局していなかった。成体の茸状乳頭、軟口蓋

味蕾では、Sox2 が一部の細胞のみに発現するのに対し、Prox1 は多くの細胞に発現していた。

(2) 有郭乳頭における味蕾基底細胞マーカーの発現開始時期、味蕾基底細胞マーカーと Sox2 と関連性の解析

胎生 12.5 日では、まだ有郭乳頭の構造は認められなかったが、有郭乳頭の予定形成領域上皮全体に Sox2 の発現が認められ、その中に Prox1 を発現する細胞が散在しており、このステージから基底細胞マーカーを発現する細胞が分化することが明らかとなった。胎生 14.5 日では、乳頭構造が形成され、乳頭上部に Sox2 が強く発現し、一部が Prox1 を共発現していた。これより、胎生 12.5 日での Prox1 発現細胞は、胎生 14.5 日の乳頭上部での Prox1 発現細胞に相当すると考えられる。しかし、成体の有郭乳頭上部に味蕾はほとんど分布しないことから、Prox1 を発現するこれらの細胞の多くは消失し、一部のみが成熟味蕾へと分化すると考えられる。このステージでは、Prox1 を発現する細胞の一部に Mash1 の発現も認められた。

乳頭溝においては、胎生 17.5 日で乳頭溝内側壁に、胎生 18.5 日で乳頭溝内・外側壁に強い Sox2 の発現が広く認められ、一部が Prox1 を共発現していた。これより、乳頭溝では、胎生 17.5 日から味蕾基底細胞マーカーを発現する細胞が分化することが明らかとなった。成体の有郭乳頭味蕾では、茸状乳頭、軟口蓋味蕾と同様に、Sox2 が一部の細胞のみに発現するのに対し、Prox1 は多くの細胞に発現していた。

一方、Shh の発現は、胎生 12.5 日から胎生 18.5 日で Sox2 の発現とほぼ重なっていた。

以上、これらの解析を通じ、下記が明らかとなった。

- ①味蕾の分化開始は、Shh, Sox2 が味蕾原器に限局する前であっても Prox1 を発現する細胞の出現で示され、この細胞が味蕾へと分化する。
- ②有郭乳頭での味蕾基底細胞マーカーを発現する細胞の分化は、乳頭上部が乳頭溝に先行する。
- ③Prox1 が味蕾分化から成熟味蕾に至るまで重要な役割を担う可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① 中山歩, 三浦裕仁, 大木誠, 日下部裕子, 原田秀逸: 味蕾の発生過程における味蕾基底細胞マーカーと Sox2 の発現, 日本味と匂学会誌, 査読有, 18 巻, 2011, 223-224

[学会発表] (計 6 件)

- ① 中山歩, 三浦裕仁, 大木誠, 日下部裕子, 原田秀逸: Basal cell markers of taste buds and Sox2 during taste bud development and maturation, 第 9 回国際シンポジウム「味覚・嗅覚の分子神経機構」, 2011 年 11 月 6 日 (福岡)
- ② 三浦裕仁, 友成博, 中山歩, 松村江梨子, 大木誠, 原田秀逸: Regional differences in bitter taste signal transduction between the soft palate and fungiform papillae, 第 9 回国際シンポジウム「味覚・嗅覚の分子神経機構」, 2011 年 11 月 5 日 (福岡)
- ③ 中山歩, 三浦裕仁, 大木誠, 日下部裕子, 原田秀逸: 味蕾の発生・成熟過程における味蕾基底細胞マーカーと Sox2 の発現, 日本味と匂学会第 45 回大会, 2011 年 10 月 7 日 (石川)
- ④ 中山歩, 三浦裕仁, 大木誠, 日下部裕子, 原田秀逸: 味蕾の発生・成熟過程における味蕾基底細胞マーカーと Sox2 の関連性, 第 53 回基礎歯科医学会学術大会, 2011 年 10 月 1 日 (岐阜)
- ⑤ 三浦裕仁, 友成博, 中山歩, 大木誠, 原田秀逸: 味蕾の細胞分化と機能の部位特性, 第 53 回基礎歯科医学会学術大会, 2011 年 9 月 30 日 (岐阜)
- ⑥ 三浦裕仁, 中山歩, 大木誠, 原田秀逸: Appearance of Prox1 cells during taste buds development and turnover, 第 8 回国際シンポジウム「味覚・嗅覚の分子神経機構」, 2010 年 11 月 6 日 (福岡)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中山 歩 (NAKAYAMA AYUMI)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・助教

研究者番号：10398290