

マウスの舌および軟口蓋における味覚受容器の発生過程

—受容器の発現時期と味覚機能発現について—

加川千鶴世¹ 大須賀謙二² 宗形芳英² 鈴木康生³

Development and Functional Transition of Taste Buds in Mice

Chiduyo KAGAWA¹, Kenji OHSUGA², Yoshiei MUNAKATA² and Yasuo SUZUKI³

The expression of mouse (C57BL/6) taste buds and their function were examined to assess the chronological order at an ontogenic (from the fetal period to birth) employing level molecular biological and immunohistochemical techniques. The T1Rs family, α -gustducin, taste receptor mGluR and PGP9.5 were used as indicators of the taste function. The formation of taste buds began in the fetal soft palate on the 14th day in the fungiform papilla on the 16th day, and in the circumvallate papilla just before birth. It was suggested that the T1Rs family developed ahead of taste bud formation. mGluR and α -gustducin participating in taste transduction develop in the fetus at 14-16 days except in taste epithelium of the soft palate. On the appearance of taste buds, PGP9.5, α -gustducin, and, mGluR appeared in the mouse in this order, at first in the soft palate, then in the fungiform papilla and finally in the circumvallate papilla. Furthermore. It was suggested that it is effective for molar eruption in preparation for the same period as taste function development on the tongue in preparation for the weaning period.

Key words : taste buds, development, RT-PCR, immunohistochemistry, functional transition

緒 言

哺乳動物の味蕾は、舌、軟口蓋、及び咽喉頭の上皮に存在する。味蕾の出現と成熟(機能発現)の時期は、動物種によって部位毎に異なっている¹⁻⁵⁾。味蕾に存在する味細胞の味覚受容には、多くの機能タンパク質が関与し、甘味、旨味及び苦味の受容体は、7回膜貫通型のGタンパク質共役型受

容体(GPCR, G-protein Coupled Receptors)であることが解明されている⁶⁾。このGPCRファミリーの中には、T1R(Taste Receptor type1)ファミリーと呼ばれる3種のタンパク質T1R1, T1R2, T1R3がある。それらはヘテロ二量体を構成して、味覚受容に関与することが知られている。T1R1/T1R3のヘテロ二量体はアミノ酸や旨味の受容を、T1R2/T1R3のヘテロ二量体は甘味を受容してい

受付：平成23年6月22日，受理：平成23年7月20日
奥羽大学大学院歯学研究科加齢口腔科学領域小児歯科学専攻¹
奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座口腔生理学分野²
元奥羽大学歯学部成長発育歯学講座小児歯科学分野教授³
(指導：宗形芳英教授)

Division of Oral Pediatric Dentistry, Department of Oral Growth and Development, Ohu University Graduate School of Dentistry¹
Division of Oral Physiology, Department of Oral Function and Molecular Biology, Ohu University School of Dentistry²
Division of Oral Pediatric Dentistry, Department of Oral Growth and Development, Ohu University School of Dentistry, Professor, ret.³
(Director : Prof. Yoshiei MUNAKATA)

るといわれている^{1~5,7~10)}。

味覚受容に關与する G タンパク質共役型受容体には代謝性グルタミン酸受容体 (mGluRs) がある。この受容体は L-アミノ酸によく応答することから旨味の受容に關与しているといわれる。

味覚受容には、味細胞の細胞膜特有に存在し、味覚受容体と共役する G タンパク質である α -gustducin が深く關連しており、この α -gustducin は苦味や甘味の受容に關係することが知られている。

味蕾内の細胞は暗細胞、明細胞及び基底細胞の 3 種に分類され、暗細胞は I 型細胞とも呼ばれリソソームと電子密度の高い分泌顆粒を有している、明細胞は味覚受容細胞 (味細胞) と考えられており、シナプス小胞の有無によりさらに二つに分類される。シナプス小胞を持たずに神経終末とシナプスをつくらぬ明細胞は II 型細胞と呼ばれ、一方、シナプス小胞を持つ明細胞で、神経終末と結合している細胞は III 型細胞と呼ばれている。上記の α -gustducin は味細胞の II 型細胞の特異的なマーカーであり、また、III 型細胞は神経要素のマーカーである protein gene product 9.5 (PGP-9.5) の抗体で標識される事が知られている^{11,12)}。

以上のように、味覚の分子メカニズムについては近年大きな進展が見られ種々の報告がなされているものの、味蕾の形成とそれに伴う味覚機能の発現を、舌、軟口蓋などの部位毎に、胎生期から出生後にかけて時系列で詳細に検討した報告は見当たらない。

そこで、本研究では、味蕾の発現について、HE 染色した切片から胎生期と出生後について時系列で形態学的に観察後、分子生物学的手法^{6,8,11~18)}を用いて、マウス味覚受容器の機能発現について胎生期から出生後まで時系列的に調べることにした。

併せて、離乳期の顎顔面領域では、顎の骨格や筋肉、歯列、舌などに変化が生じると考えられるので、歯の萌出状況と味覚受容体の機能発現時期を比較した。

マウス (C57BL-6) の味蕾とその機能の発現を、胎生期から出生後の順に分子生物学および免疫組織化学の技術を採用して検討した。味覚機能の

T1R1:

FP (in Ex4) aatggacacctgaatggacctt

RP (in Ex6) aggagaggaaaatggcaaac

T1R2:

FP (in Ex4) gcaaccagctcttcttcgac

RP (in Ex6) cggcagaacaggagaagac

T1R3:

FP (in Ex5) gtgccagctctcccagtgcttc

RP (in Ex6) gtgacccattggtgtgtgtg

Fig. 1 Nucreotide sequence primers used for PCR

発現の指標としては、T1Rs ファミリー、 α -gustducin、味覚受容体である mGluR と PGP9.5 を使用しておこなった。味蕾の形成は、軟口蓋が 14 日、茸状乳頭が 16 日、有郭乳頭では、出生前に始まった。T1Rs ファミリーは、味蕾が形成される前に発現した。軟口蓋においては、味の変換に關与する mGluR と α ガストデュエシンの発現を胎生 14~16 日間に確認した。味覚器の発現の順序は、味蕾、PGP9.5、 α -gustducin、mGluR それぞれ、軟口蓋、茸状乳頭、最終的に有郭乳頭に出現した。大白の萌出と同じ期間に、舌における味覚機能が発現することは、離乳期に備えて有効であると示唆された。

材料と方法

1. 実験動物

実験動物には、5 週齢の雌性、雄性マウス (日本クレア社、東京) 各 10 頭をカップリングさせて生じた、胎生 8 日~生後 21 日のマウスを時系列に適宜採取して使用した。なお、実験にあたっては奥羽大学動物実験委員会の承認を得て、奥羽大学実験動物指針を遵守して行った。(動物実験許可番号 第 52 号)

2. 方法

1) 味蕾発現時期の組織学的検討

麻酔致死させた胎生 11 日から生後 18 日までのマウスから口蓋と舌を採取した。採取した材料は、4% パラホルムアルデヒド固定液 0.1M リン酸緩衝生理食塩水 (PBS pH 7.2) にて溶解させ、4℃ で 24 時間浸漬固定した。固定後、通法に従いア

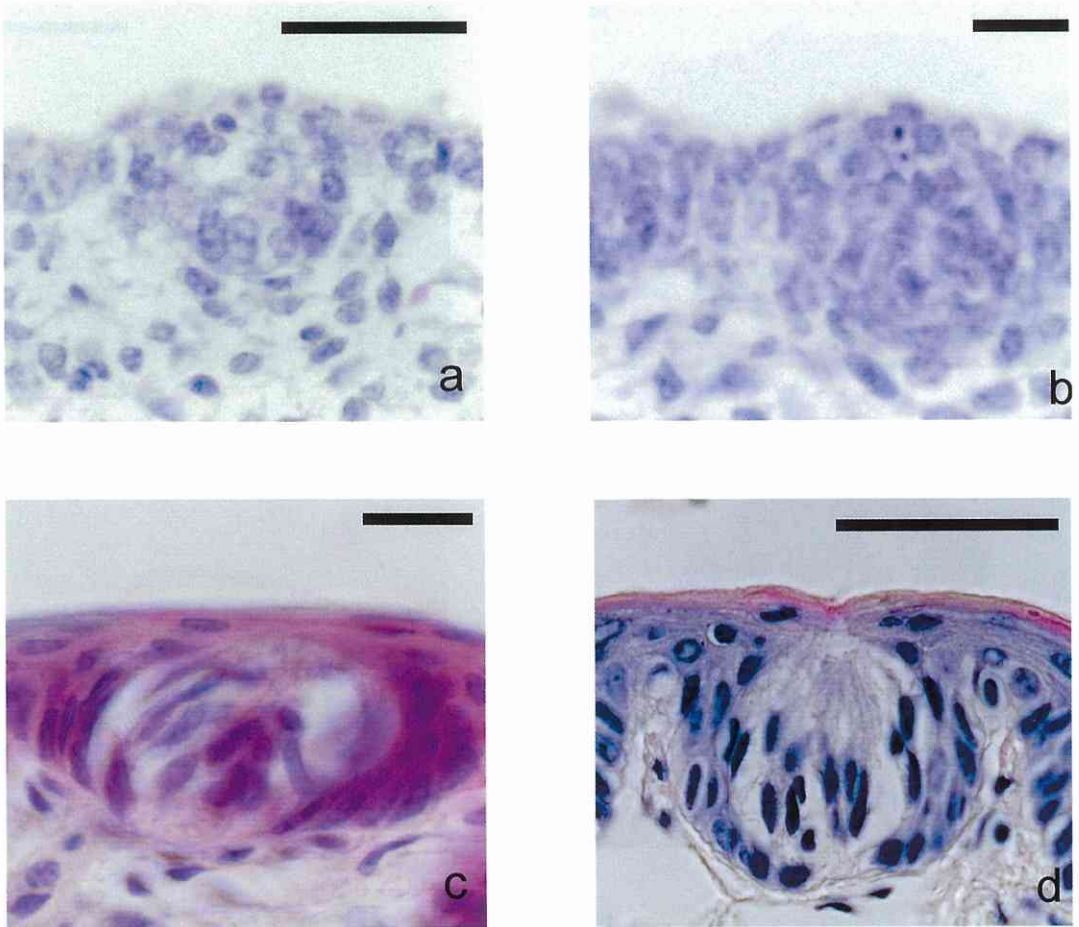


Fig. 2 Developmental changes of taste buds on the soft palate in C57/BL6.

F-14(a), F-16(b), F-18(c), PN-1(d) Bars : (a) : 20 μ m, (b) : 30 μ m, (c) : 30 μ m, (d) : 40 μ m

Abbreviation : F-14, the 14th fetal days ; F-16, the 16th fetal days ; F-18, 18th fetal days ; PN-1, the postnatal 1th day.

アルコール脱水, パラフィン包埋を行い, ミクロトームによる 5 μ m の薄切切片を作製した。切片に HE 染色を行ってから, 舌と軟口蓋組織の形態的变化を顕微鏡観察した。

2) 遺伝子工学的実験 (RT-PCR 法)

マウスの味蕾上皮組織の mRNA を種々の時期に抽出し (Quick Prep TM Micro mRNA Purification Kit, GE Healthcare, 東京), RT-PCR 法により目的の cDNA 断片を得た。

また, 胎仔では各乳頭部位の上皮だけの分離は困難なため, 便宜上, 舌粘膜と軟口蓋粘膜から

mRNA をそれぞれ抽出して実験を行った。

(1) プライマーの設計

RT-PCR に用いたプライマーは, マウスの T1Rs ファミリーの T1R1 と T1R2 と T1R3 の塩基配列に対して, フォワード・プライマー (FP) とリバース・プライマー (RP) を作製した (Fig. 1)。なお, これらは, 成獣マウスから採取し, いずれも少なくとも 1 つのイントロンを含むように設計した。

(2) PCR の条件

胎生 8 日以降の舌, 軟口蓋粘膜から抽出した

(3)

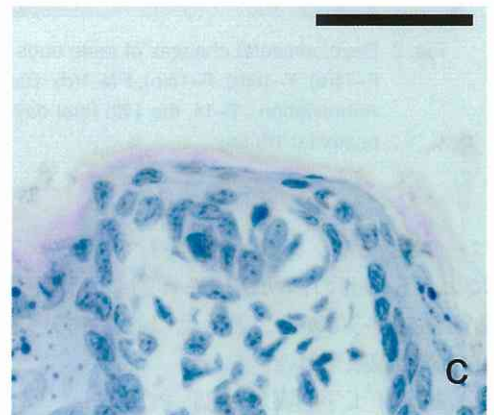
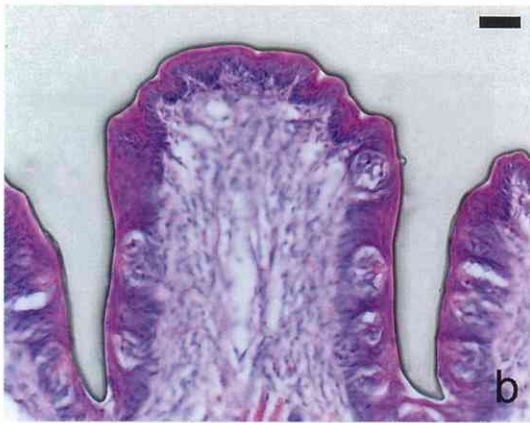
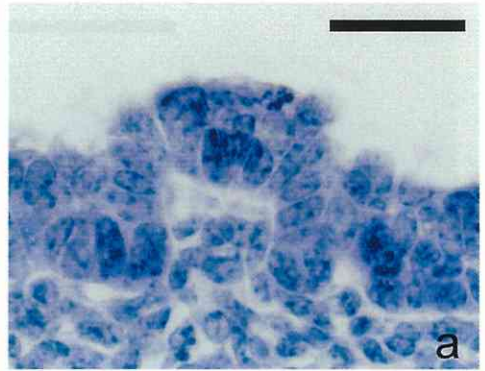


Fig. 3 Developmental changes of taste buds on the circumvallate papilla in C57/BL6.

PN-10(a), PN-15(b), PN-18(c) Bars : (a) : 30 μ m, (b) : 30 μ m, (c) : 40 μ m

Abbreviations : PN-10, the 10th postnatal days ; PN-15, the 15th postnatal days ; PN-18, the 18th postnatal days.

Fig. 4 Developmental changes of taste buds on the fungiform papillae in C57/BL6.

F-14(a), F16(b), F-18(c) Bars : (a) : 30 μ m, (b) : 20 μ m, (c) : 40 μ m

Abbreviations : F-14, the 14th fetal days ; F-16, the 16th fetal days ; F-18, the 18th fetal days.

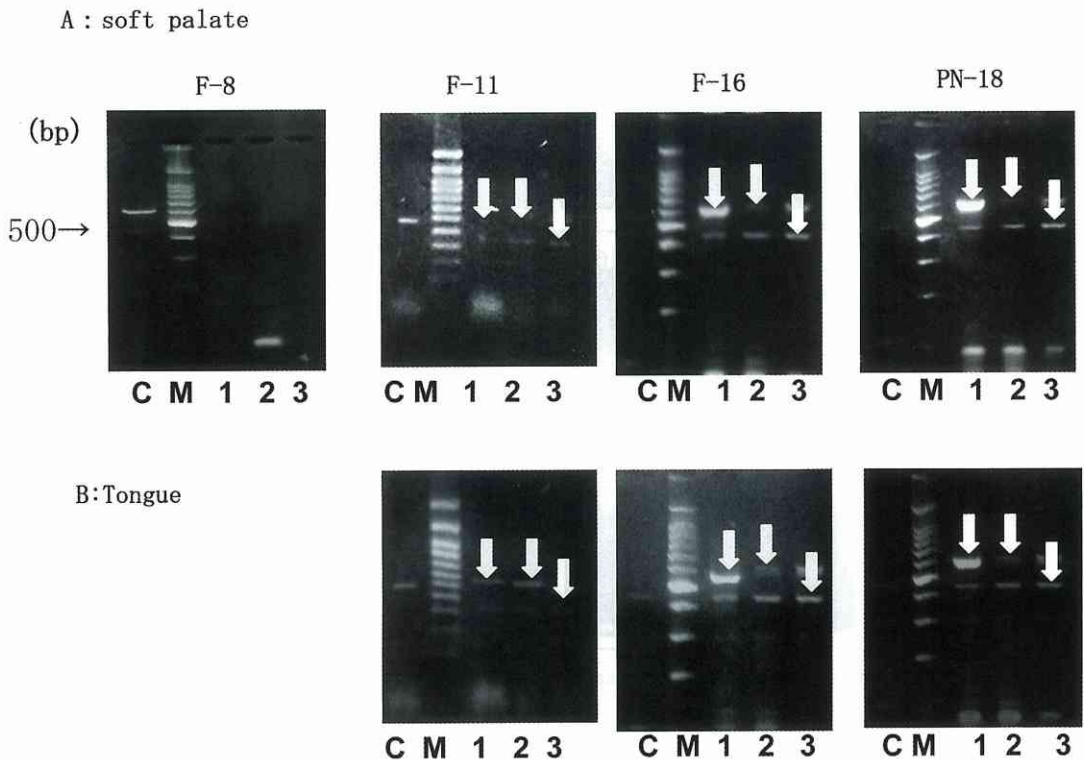


Fig. 5 The time line of expressions for T1R1, T1R2 and T1R3 family in soft palate (A) and the tongue (B), Control : (C), Marker : (M). Arrows indicate T1R1, T1R2 and T1R3 from left to right in each photo, respectively.

Abbreviations : F-8, the 8th fetal days ; F-11, the 11th fetal days ; F-16, the 10th fetal days ; F-18, the 18th fetal days.

poly(A)⁺RNA に対して、One-Step RT-PCR Kit (136232861, QUIAGEN, 東京) を用いて PCR を行った。

95℃ 5 分の RT を行ってから、30 サイクルの PCR を行った。各サイクルは 95℃ を 1 分、58～59℃ のアニーリングを 1 分、72℃ を 2 分とした。なお、アニーリングの温度は、予備実験により 58～59℃ とした (図 1)。

(3) 電気泳動による PCR 産物のスクリーニング
PCR 産物である DNA 断片は、アガロースゲル電気泳動によって分離し、目的の T1R1 (547bp)、T1R2 (600bp) および T1R3 (421bp) の DNA 断片を確認した。なお電気泳動には、1.5% アガロースゲルと TBE (Tris, borate, EDTA) バッファーを用いた。

3) 免疫組織化学実験

組織学的検討と同様に、麻酔後、舌、口蓋を摘出し、固定、脱水、包埋を行い薄切片を作製した。

α -gustducin と mGluRs (metabotropic glutamate receptors) の存在を検定するために、anti- α -gustducin (G_αgust, I-20, Santa Cruz Bio. Inc, USA) と anti-mGluR4 (H-40, Santa Cruz Bio. Inc.) を一次抗体として使用した。

味蕾のⅢ型細胞の出現を確認するために、神経要素のマーカーで anti-rabbit IgG による標識を行った。さらに、味細胞のⅢ型細胞 (あるいはパラニューロン) と味覚情報の伝達に関わる神経の存在を検討するために、protein gene product 9.5 (PGP-9.5, RA95101, Ultraclone, USA) を使用した。

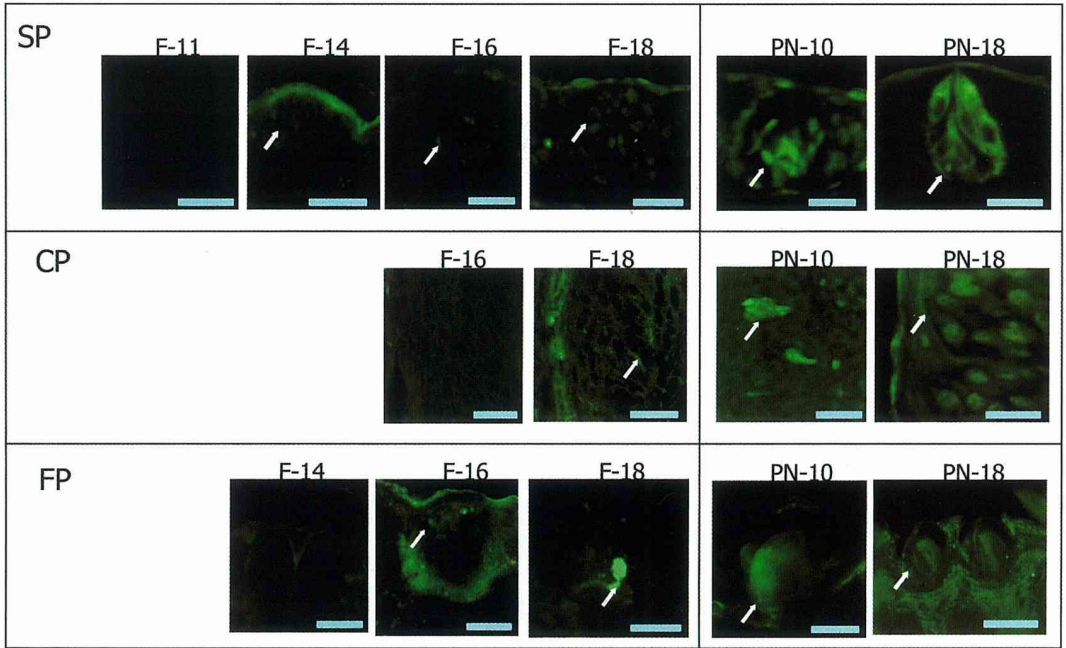


Fig. 6 α -gustducin immunolabeling in the mouse soft palate (SP) fungiform papillae (FP), and circumvallate papillae (CP) at different age of the fetus and postnatal. Bars : 20 μ m fetuses of SP : 30 μ m fetuses of FP : 50 μ m
 Abbreviations : F-11, the 11th fetal days ; F-16, the 16th fetal days ; F-18, the 18th fetal days ; PN-10, the 10th postnatal days ; PN-18, the 18th postnatal days.

Table 1 Comparison of expressions for the gene families of taste receptors, gustatory proteins and dental eruption during development of the mice.

Stages (days)	Expressions			TB			Receptors			Anti-Gust			Anti-mGluR			PGP 9.5			DE	Remarks
	SP	T		T1R1	T1R2	T1R3	SP	T		SP	T		SP	T		DE				
		CP	FP					CP	FP		CP	FP		CP	FP					
Fetuses	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	
	11	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	
	14	+	-	-	+	±	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-		
	16	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-		
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	**	
Postnatal mice	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-		
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-		
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	***	
	18~21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	TM	WP

* : The stage for the figuration of palatal concrescence and the tongue emergence.
 ** : Teeth germs were recognized in the fetuses.
 *** : Molar teeth were erupted and the total number of taste buds on the tongue was prominently increased.
 Abbreviations : T1R1, T1R2 and T1R3, T1Rs family related to taste receptors ; TB, taste bud ; SP, soft palate ; CP, circumvallate papillae ; FP, fungiform papillae ; T, tongue (fungiform papillae and circumvallate papillae) ; Gust, gustducin ; mGluR, metabotropic glutamate receptor type 4 ; DE, dental eruption of lower incisors ; TM, complete maturation of teeth with molars ; WP, weaning period.

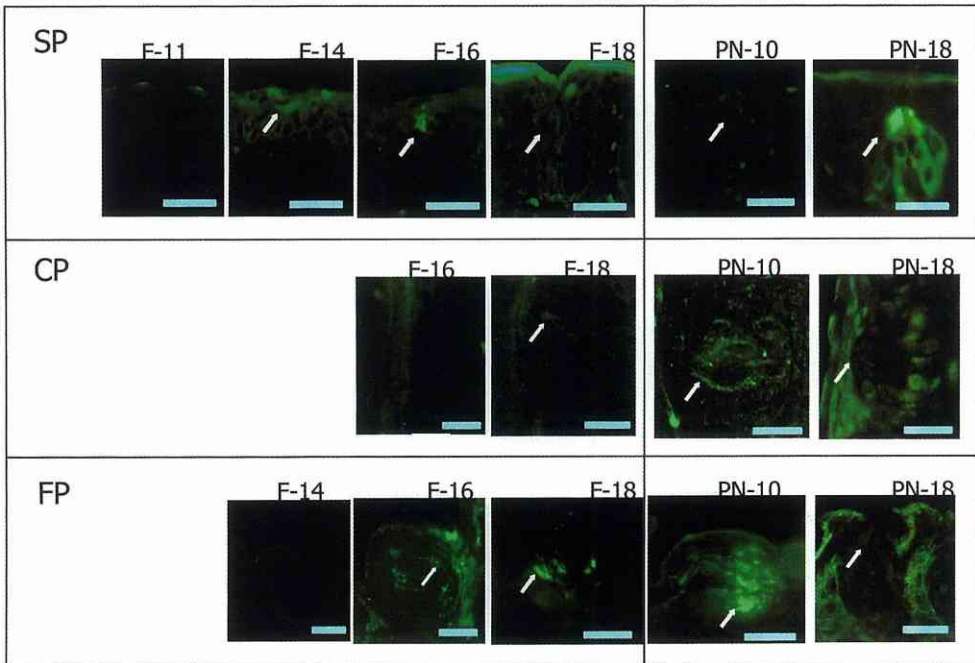


Fig. 7 mGluR immunolabeling in the mouse soft palate (SP) fungiform papillae (FP), and circumvallate papillae (CP) at different age of the fetus and postnatal. Bars : 30 μ m fetuses of SP : 40 μ m CP and the postnatal of SP : 50 μ m in FP.

Abbreviations : F-11, the 11th fetal days ; F-16, the 16th fetal days ; F-18, the 18th fetal days ; PN-10, the 10th postnatal days ; PN-18, the 18th postnatal days.

一次抗体の反応は、いずれも4℃で24時間反応させて行い、洗浄後、anti- α -gustducinとanti-mGluR4の二次抗体としては、200倍希釈のAlexa Fluor® 488色素で標識したヤギ抗ウサギIgG抗体(A11008, Invitrogen, USA)を4℃で24時間反応させた。また、PGP9.5染色の二次抗体としては、Cy3標識ヤギ抗ウサギIgG抗体(Jackson, USA)を50倍希釈して使用した。

二次抗体との反応後、PBS洗浄を行ってから、VECTASHIELD Mounting Medium(VECTOR Laboratories Inc, USA)にて封入し、蛍光顕微鏡にて検鏡した。なお、切片の洗浄および抗体の希釈には0.1% Tween 20 (Sigma aldrich Japan, 東京)含有の0.1M PBS(pH7.2)を用いた。

3) 歯胚と歯牙萌出状況の観察

エーテルによる安楽死の後に採取した、胎生8日～出生後21日までのマウス下顎骨のエックス

線写真を軟エックス線発生装置(Sofron, SRO-M40, 東京)により撮影した。撮影条件は、15kv (1.0mA)で露出時間2～3分とした。

結 果

1. 味蕾の発現時期

1) 軟口蓋の味蕾

軟口蓋では、胎生14日前後から既に味蕾の形成が始まり(Fig. 2a)、胎生18～20日では味蕾に特徴的なフラスコ状形態が形成された(Fig. 2c)。生後1日では、形態(味蕾の個数)及び各味蕾の細胞数が増加していた(Fig. 2d)。

2) 有郭乳頭の味蕾

有郭乳頭では、胎生18～20日において、味蕾の原基とみなされる上皮構造がみられた。出生後1～10日では、少数の未熟な味蕾の存在が観察された(Fig. 3a)。生後11日には、成熟した味蕾

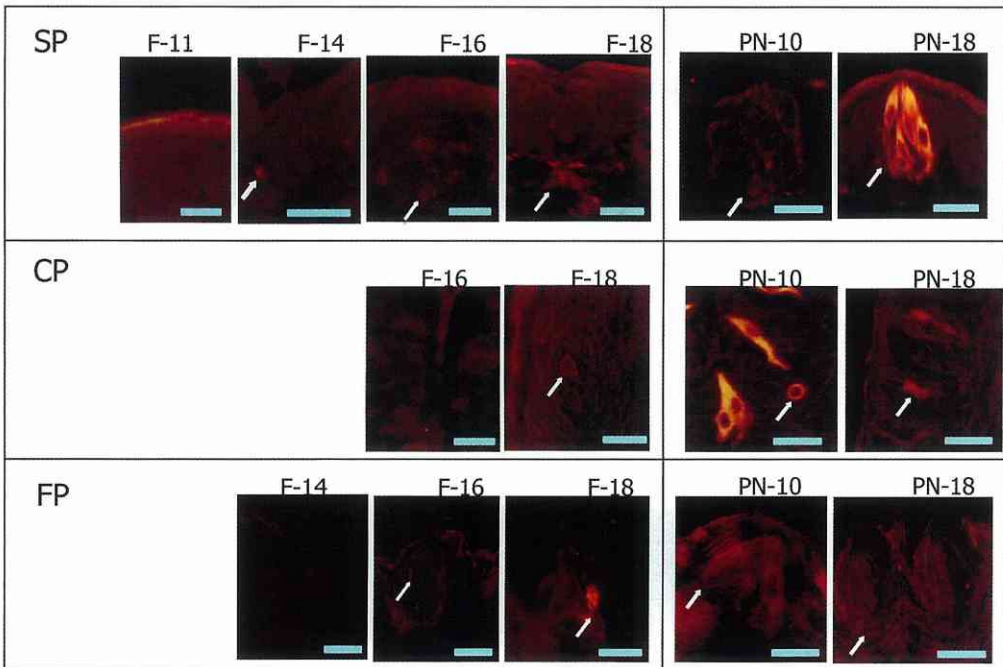


Fig. 8 PGP9.5 immunolabeling in the mouse soft palate (SP)fungiform papillae (FP), and circumvallate papillae (CP) at different age of the fetus and postnatal. Bars : 30 μ m fetuses of SP and FP : 40 μ m CP and the postnatal of FP : 50 μ m in the postnatal of SP.
Abbreviations : F-14, the 14th fetal days ; F-16, the 16th fetal days ; F-18, the 18th fetal days ; PN-1, the 1st postnatal days ; PN-10, the 10th postnatal days ; PN-18, the 18th postnatal days.

が認められるようになり、生後15日では、成熟した味蕾の数が急激に増加し (Fig. 3b), 生後18日には、成獣マウスとほぼ同数の味蕾数が確認された (Fig. 3c)。

3) 茸状乳頭の味蕾

茸状乳頭の味蕾は胎生16日頃に形成が始まり (Fig. 4a), 生後1日目には成熟が開始されたものと思われた (Fig. 4c)。

2. T1Rs ファミリーの発現

T1R ファミリーの mRNA の発現は、同時期の胎生11日頃より軟口蓋と舌に確認できたが (Fig. 5), 軟口蓋においては、舌における結果より強く発現していた。

3. α -gustducin の発現

軟口蓋では、 α -gustducin の発現が胎生14日に見られ、今回観察した三つの部位の中では最も早く発現した。胎生18日では、それ以前と比べ、

α -gustducin の発現強度が増加した。

有郭乳頭では、胎生18日において α -gustducin の発現が認められた。また、生後10, 11日頃からの味蕾数の増加に伴い、 α -gustducin の強い陽性反応が確認された (Fig. 6, PN-10 PN-18)。

茸状乳頭では、胎生16日に α -gustducin の発現が確認された (Fig. 6 FP F-16)。

4. mGluRs の発現

軟口蓋では、胎生14日より mGluRs の陽性反応が確認され、胎生18日には、味孔付近に明確な陽性反応が観察された。

有郭乳頭では、胎生18日に mGluR の局在が確認され (Fig. 7, CP), 茸状乳頭では、胎生16日から mGluRs の陽性反応が観察された (Fig. 7, FP F-16)。

5. PGP 9.5 の発現

軟口蓋では、胎生14日以降に陽性細胞が観察

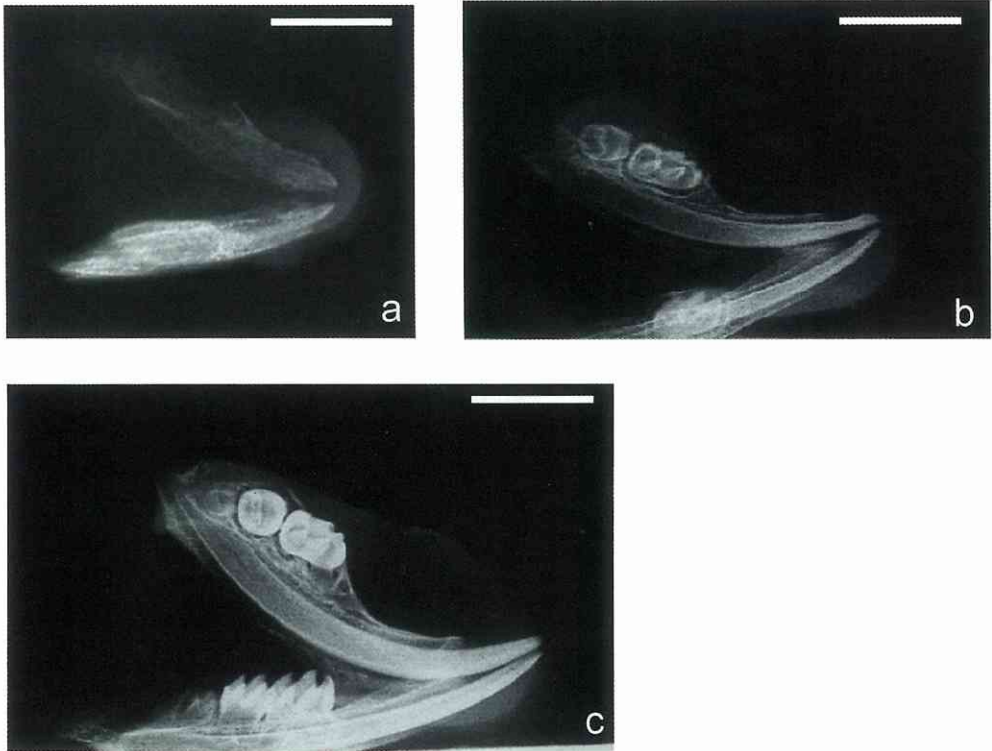


Fig. 9 X-ray Photos of dental germs and eruptions during development of the mouse.

F-18(a), PN-10(b), PN-15)

Bars : 1 mm.

Abbreviations : F-18, the 18th fetal days ; PN-10, the 10th postnatal days ; PN-15, the 15th postnatal days.

された。

有郭乳頭では、胎生18日に anti-PGP9.5陽性反応が認められ、強い陽性反応を示す細胞は、出生後10日以降に認められた (Fig. 8, F-18)。

茸状乳頭では、胎生16日以降に弱い陽性反応を示す細胞が認められた (Fig. 8, FP F-16)。

6. 歯胚の発現と歯の萌出時期

エックス線により下顎臼歯の歯胚が確認されたのは胎生18日で (Fig. 9, a), 下顎切歯の萌出開始は生後10日であり (Fig. 9, b), 臼歯萌出の開始が確認されたのは生後15日であった (Fig. 9, c)。

今回の実験から得られた全結果を Table 1 にまとめた。

考 察

ヒトやマウスなどの哺乳類では、味覚が口腔内

の味蕾に存在する味覚受容細胞により知覚される。この味覚受容細胞は種々の化学物質に应答し、それらの物質による味覚情報を中枢に伝える。

本研究では、味蕾の発生と成熟の過程を、PCR及び免疫組織化学手法^{6,8,11~18)}により、時系列的に解析した。

T1R ファミリーの発現に関する遺伝子工学的実験の結果において、胎生11日の段階から、味覚受容体 (遺伝子) の発現が確認できるが、組織標本では味蕾の形成が認められず、免疫組織化学においても味覚に関与する機能タンパク質 α -gustducin や旨味受容体である mGluR が確認されないことから、この時期では味覚機能は成熟していないものと考えられる。

胎生14日では軟口蓋に味蕾の形成が認められ、さらに、 α -gustducin, mGluR も発現していた。

胎生16日では茸状乳頭にも味蕾の形成が認められ、さらに、 α -gustducin, mGluRも発現していることから、この時期には茸状乳頭の味蕾においても味覚機能が成熟してきたものと考えられる。有郭乳頭では、胎生18~20日(出生の1~2日前)に味蕾の形成が認められ、また、 α -gustducin, mGluRの発現も確認された。

以上の組織学的所見及び免疫染色結果をまとめると、今回観察した3部位の中では、軟口蓋において最も早期に味覚機能が成熟するものとみなされた。

PGP9.5の発現開始時期が、今回観察した3箇所の味蕾それぞれにおいて α -gustducin, mGluRの発現開始時期と一致することから、PGP9.5発現開始時期には、味蕾に神経が到達し、味覚情報伝達が始まっている可能性が考えられた。

マウスの味覚上皮におけるPGP9.5発現を免疫組織化学的に検討した研究¹⁹⁾によると、胎生13日で有郭乳頭が形成されはじめ、胎生16~17日で有郭乳頭内に神経が結合し、出生直後に、抗PGP9.5抗体による標識細胞が観察され、出生後14日以降は成熟マウスの味蕾と同等のPGP9.5染色状態がみられるとされる。本研究では、胎生14日目には軟口蓋の味蕾近辺にPGP9.5免疫反応が観察され、また、それらが味蕾の基部付近にあることから、味蕾内の細胞というよりはその周辺にある神経要素(神経叢)が標識された可能性が考えられた(Fig. 7, SP)。このことは、胎生14日で神経が味蕾に到達していることを示唆し、胎生14日目以降の軟口蓋では味覚情報の伝達が行われている可能性も推察される。また、有郭乳頭の味蕾においても軟口蓋と同様のPGP9.5免疫染色結果がみられたことから、胎生18日以降には有郭乳頭においても味覚機能が発揮されている可能性が示唆された。以上のPGP9.5免疫染色結果をまとめると、抗PGP9.5の局在は軟口蓋で最も早い時期に観察され、次いで茸状乳頭、有郭乳頭の順に見出されることが判明した。

一方、軟口蓋の味蕾に関する免疫反応実験のこれまでの報告¹⁷⁾では、 α -gustducinに対する免疫反応が茸状乳頭のそれより強く、はるかに早くから出現しており¹⁹⁾、本研究の結果と一致してい

る(Fig. 6, Table 1)。

T1Rsファミリーの茸状乳頭と有郭乳頭におけるT1R1の発現強度についての研究^{3,20,21)}では、茸状乳頭における発現が有郭乳頭における発現より強く、T1R2の発現強度は、茸状乳頭における発現より有郭乳頭における発現が強いと述べられている。また、T1R3の発現は、2つの乳頭で発現強度の差はなく、T1R1及びT1R2よりもはるかに強く発現するとされる。本実験の結果では、3つのT1Rsファミリーの発現強度は、胎生期ではT1R3が一番強くT1R2、T1R1の順に強く反応した。出生後にはT1R1が一番強くT1R3、T1R2の順に強く反応を示した(Fig. 4)。このこととT1R1/T1R3二量体が旨味を受容していることを合せ考えると、出生後にマウスの旨味(アミノ酸)に対する感受性が上がっている可能性が考えられる。また、歯の萌出と同時期に味蕾数が増加することから、離乳後に摂取してゆく固形食餌を味わう準備がなされているものとみなされた。

以上のことから、マウスでは、哺乳期までに軟口蓋の味覚機能が成熟し、続いて離乳期の臼歯の萌出が起きる時期に、舌における味覚機能が成熟することが明らかになった。

結 論

本実験結果から、次の結論を得た。

1. C57BL/6マウスでは、胎生11日以降において、甘味、旨味の認識に関わるT1RsファミリーのmRNAが発現した。
2. 味蕾の形成は胎生期から始まり、味蕾形成に関わる抗PGP9.5抗体陽性細胞の出現、味覚機能タンパク質(α -gustducin)と味覚受容体(mGluR)は、その発現が開始する順序は、軟口蓋、茸状乳頭、有郭乳頭の順であった。
3. 胎生11日に味覚受容体遺伝子は発現し始めるが、味覚に関与する機能タンパク質の α -gustducinや旨味受容体であるmGluRは発現しない。
4. 胎生16日には有郭乳頭を除いて味覚が機能しているが、有郭乳頭では、胎生18~20日(出生の1~2日前)に味覚が機能し始める。PGP9.5が胎生18~20日に有郭乳頭の味蕾内細胞に局在

していることから、この胎生18～20日までに、味蕾に神経が到達するとみなされる。

以上のことから、マウスでは、哺乳期までに軟口蓋の味覚機能が成熟し、続いて離乳期の臼歯の萌出が起きる時期に、舌における味覚機能が成熟することが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、本研究開始の際にご指導を賜りました本学口腔機能分子生物学講座丸井隆之前教授に深甚なる感謝の意を表します。また、ご専門の立場からご校閲を賜りました生体構造学講座の渡邊弘樹教授ならびに口腔病態解析学講座伊東博司教授に深謝いたします。さらに、終始暖かい励ましとご助言を頂きました成長発育歯学講座小児歯科学分野島村和宏教授ならびに本研究遂行に際しご協力下さいました、口腔機能分子生物学講座口腔生理学分野、成長発育歯学講座小児歯科学分野の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 中島清人, 勝川秀夫, 碓 哲崇, 杉村忠敬: 味覚受容機構における分子生物学的急展開. 岐歯学誌 **30**; 172-182 2004.
- 2) Hoon, M. A., Adler, E., Lindemeier, I., Battey, J. F., Ryba, N. J. P. and Zuker, C. S.: Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell* **96**; 541-551 1999.
- 3) Sainz, E., Korley, Y. G., Battey, J. F. and Sullivan, S. L.: Identification of a novel member of the T1R family of putative taste receptors. *J. Neurochem.* **77**; 896-903 2001.
- 4) Nelson, G., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Zhang, Y., Ryba, N. J. P. and Zuker, C. S.: Mammalian sweet taste receptors. *Cell* **106**; 381-390 2001.
- 5) Zhao, G. Q., Zhang, Y., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Erlenbach, I., Ryba, N. J. P. and Zuker, C. S.: The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell* **115**; 255-266 2003.
- 6) Zhang, G., Zhang, H., Deng, S. and Qin, Y.: Differentiation of α -gustducin in taste buds of the mouse soft palate and fungiform papillae. *Acta histochem.* **109**; 486-490 2007.
- 7) Zhang, G., Zhang, H., Deng, S., Qin, Y. and Wang, T.: Quantitative study of taste bud distribution within the oral cavity of the postnatal mouse. *Arch. Oral Biol.* **53**; 583-589 2008.
- 8) Zhang, G., Zhang, H., Deng, S. and Qin, Y.: Regional differences in taste bud distribution and α -gustducin expression patterns in the mouse fungiform papillae. *Chem. Senses* **33**; 357-362 2008.
- 9) Kinnamon, S. C. and Margolskee, R. F.: Mechanisms of taste transduction. *Curr. Opin. Neurobiol.* **6**; 506-513 1996.
- 10) Adler, E., Hoon, M. A., Mueller, K. L., Chandrashekar, J., Ryba, N. J. P. and Zuker, C. S.: A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* **100**; 693-702 2000.
- 11) 瀬田祐司: マウスの有郭乳頭ならびに茸状乳頭の味蕾の免疫組織化学的・微細構造的解析—コンピュータによる味蕾の3次元解析—. 九州歯科誌 **50**; 269-286 1996.
- 12) Kawakoshi, K., Suzuki, Y., Okumura, K., Shibata, and T. Takeda, M.: Expression of nerve growth factor and neurturin, and their receptors in mouse taste buds. *J. Oral Biosci.* **47**; 157-167 2005.
- 13) Abe, K.: Studies on taste: Molecular biology and food science. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **72**; 1647-1656 2008.
- 14) Chandrashekar, J., Mueller, K. L., Hoon, M. A., Adler, E., Feng, L., Guo, W., Zuker, C. S. and Ryba, N. J. P.: T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell* **100**; 703-711 2000.
- 15) He, W., Danilova, V., Zou, S., Hellekant, G., Max, M., Margolskee, R. F. and Damak, S.: Partial rescue of taste responses of α -gustducin null mice by transgenic expression of α -transducin. *Chem. Senses* **27**; 719-727 2002.
- 16) Stone, L. M., Barrows, J., Finger, T. E. and Kinnamon, S. C.: Expression T1Rs and gustducin in palatal taste buds of mice. *Chem. Senses* **32**; 255-262 2007.
- 17) Miura, H., Nakayama, A., Shindo, Y., Kusakabe, Y., Tomonari, H. and Harada, S.: Expression of gustducin overlaps with that of type III IP3 receptor in taste buds of the rat soft palate. *Chem. Senses* **32**; 689-696 2007.
- 18) Tabata, S., Kudo, K., Wada-Takemura, A., Nishimura, S. and Iwamoto, H.: Structure of bovine fungiform taste buds and their immunoreactivity for gustducin. *J. Vet. Med. Sci.* **68**; 953-957 2006.
- 19) Chou, H. C., Chien, C. L. and Lu, K. S.: The distribution of PGP9.5 and NGF in the vallate papilla of adult and developing mice. *Anat. Embryol. (Berl)* **204**; 161-169 2001.
- 20) Jyotaki, M., Shigemura, N. and Ninomiya, Y.: Multiple umami receptors and their variants in human and mice. *J. Health Sci.* **55**; 674-681 2009.

- 21) Ohkuri, T., Yasumatsu, K., Horio, N., Jyotaki, M., Margolskee, R. F. and Ninomiya, Y. : Multiple sweet receptors and transduction pathways revealed in knockout mice by temperature dependence and gurmarin sensitivity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **296** ; R960-R971 2009.

著者への連絡先 : 加川千鶴世(〒963-8611)郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部成長発育歯学講座小児歯科学分野

Reprint requests : Chiduyo KAGAWA, Department of Oral Growth and Development Division of Pediatric Dentistry, Ohu University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan