



Title	ラット有郭乳頭の味蕾形成とpostsynaptic density protein 95(PSD-95)の発現
Author(s)	上田, 甲寅
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43991
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	うえ だ かつ ら 上 田 甲 寅
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 7 7 5 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 15 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学 位 論 文 名	ラット有郭乳頭の味蕾形成と postsynaptic density protein 95 (PSD-95) の発現
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 脇坂 聡 (副査) 教 授 森崎市治郎 助教授 小川 裕三 講 師 飯田 征二

論 文 内 容 の 要 旨

【研究目的】

味覚受容器である味蕾は、舌、切歯乳頭、軟口蓋、咽頭および喉頭に認められる紡錘形の特殊に分化した上皮細胞が集合した蕾状の構造体である。味蕾に存在する細胞は、大きく四つの型に分けられており、IV型細胞は他の3つの型に分化する前駆細胞といわれている。他の3つの細胞は電子顕微鏡観察による電子密度の差や味覚神経との関係によってI型（暗調）、II型（明調）、III型（中間）の3つの型にわけられる。このうちII型およびIII型細胞は味細胞と考えられている。

ほ乳類の味蕾の形成、維持、再生には、味覚神経支配が必要であると考えられている。また、味細胞は味覚神経と両方向性シナプス (reciprocal synapse) を形成していることが知られている。ラットやマウスの有郭乳頭では出生直後に味孔をもった味蕾が形成される。一般に味孔をもった味蕾は機能的にも成熟した味蕾と考えられているが、そのシナプス形成に関しては不明な点が多い。そこで本研究ではラット舌上皮および口蓋上皮の味蕾でのシナプスの分布を、シナプス後膜に認められるタンパク質である postsynaptic density protein-95 (PSD-95) を用いて検索を行い、さらに、有郭乳頭発達段階での味蕾形成と PSD-95 の発現の関係を検索した。同時に味蕾の神経支配と味細胞とシナプス形成との関係を神経要素およびIII型細胞のマーカーとされている protein gene product 9.5 (PGP 9.5)、またII型細胞のマーカーであるとされている α -gustducin (Gust) を用いて比較検討した。

【材料と方法】

実験動物として Sprague-Dawley 系ラットを用いた。

(1) 成獣ラット味覚上皮での分布

生後7～8週齢のラットを4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定後、有郭乳頭、葉状乳頭、茸状乳頭、切歯乳頭、および軟口蓋を採取し、凍結切片を作製した。それらの切片に対して PSD-95、PGP 9.5、Gust の抗体を用いて ABC 法を施した。また、蛍光二重染色法にて PSD-95 と PGP 9.5 および PSD-95 と Gust の関係を観察した。

(2) 有郭乳頭の味蕾形成との関連

出生日を0日として、経日的に動物を灌流固定後、有郭乳頭を採取し、凍結切片を作製し、(1)と同様に免疫染色を

施した。

【結 果】

(1) 成獣ラット味覚上皮での分布

舌乳頭（茸状乳頭、葉状乳頭、有郭乳頭）および口蓋粘膜（切歯乳頭、軟口蓋）のいずれの部位の味蕾においても、PGP 9.5 陽性神経線維が味蕾内に進入し、味蕾内の一部の紡錘形の細胞が PGP 9.5 陽性を示した。PGP 9.5 陽性神経線維は味蕾周囲や粘膜固有層にも認められた。Gust 陽性反応は味蕾の紡錘形の細胞に認められた。PSD-95 陽性構造物の多くは味蕾内では中央部から味孔付近にかけて点状に認められた。蛍光二重染色の結果、軟口蓋以外では、PSD-95 陽性構造物は PGP 9.5 陽性線維の終末部付近に認められた。さらに、一部の PGP 9.5 陽性細胞の周囲に多数の PSD-95 陽性構造物が観察された。それに対して Gust 陽性細胞の周囲には一部 PSD-95 陽性構造物が認められたのみであった。一方、軟口蓋において PSD-95 陽性構造物は、味蕾基底部に存在し、PGP 9.5 や Gust 陽性構造物と共に存在することはなかった。

(2) 有郭乳頭の味蕾形成との関連

出生直後の有郭乳頭では、少数の味孔をもった味蕾がみられ、その内部に PGP 9.5 陽性神経線維が進入していた。また Gust 陽性の細胞も少数ながら認められた。その後、経日的にその数が増加した。

生後 5 日に初めて、少数の PSD-95 陽性構造物が味蕾内で中央から味孔付近に認められた PSD-95 陽性構造物の密度は経日的に増加し、生後 28 日で成獣とほぼ同じ密度になった。

有郭乳頭味蕾の生後発達の過程での PGP 9.5 陽性線維および PGP 9.5 陽性細胞と PSD-95 陽性構造物との関係、および Gust 陽性細胞と PSD-95 陽性構造物の関係は成獣のそれらと同じであった。

【考察および結論】

1. これまで、味蕾でのシナプスは味蕾内の基底部から中央部にあるとされているが、今回の PSD-95 陽性構造物の味蕾内での分布から、味孔付近にもシナプスが存在する可能性が示唆された。
2. Gust 陽性細胞はⅡ型細胞であり、Ⅱ型細胞は味覚神経線維とシナプスを形成しないと言われているが、一部の Gust 陽性細胞周囲に PSD-95 陽性構造物が認められたことより、必ずしも全ての Gust 陽性細胞がⅡ型細胞とはいえない可能性が示された。
3. 有郭乳頭において PSD-95 陽性構造物が生後 5 日から認められたことより、シナプスに関して少なくとも出生直後は未成熟である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ラット味蕾の発生段階におけるシナプスの分布と味細胞との関係について、シナプス後膜のタンパク質である postsynaptic density protein 95 をマーカーとして免疫組織化学的に検索を行った。

その結果、今までシナプスを形成しないと考えられていたⅡ型細胞の一部がシナプスを形成しており、また、シナプスの形成は味蕾の形成より遅れて起こっている可能性が示唆された。

以上の研究結果は、味蕾におけるシナプスの形成に関して重要な知見を与えるものであり、博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認める。