

Title	ラット味蕾におけるレクチン組織化学
Author(s)	谷口, 亮
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47619
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	谷口 亮
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 21044 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学位論文名	ラット味蕾におけるレクチン組織化学
論文審査委員	(主査) 教授 古郷 幹彦 (副査) 教授 脇坂 聡 講師 墨 哲郎 講師 戸田 孝史

論文内容の要旨

【緒言】哺乳類の味蕾は 50~80 個の紡錘形の細胞と基底部に存在する円形の細胞からなる。ラットやマウスでは、味蕾は舌上皮にある茸状乳頭、葉状乳頭、有郭乳頭に、口蓋上皮では鼻切歯乳頭と軟口蓋に存在する。電子顕微鏡学的には、味覚細胞は暗調、明調、基底細胞の三つの型に分類されている。暗調細胞は支持細胞と考えられ I 型細胞とも呼ばれている。明調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ない明調細胞は II 型細胞と呼ばれ、シナプス小胞を持つ細胞は III 型細胞と呼ばれる。味蕾の基底部に位置する基底細胞は、IV 型細胞と呼ばれ前駆細胞と考えられる。これまでの研究から、多くの味蕾構成細胞の細胞膜は Human blood antigen type H (AbH) 陽性を示すことが明らかになっている。また、II 型細胞は味覚に関係する G 蛋白の α -gustducin、III 型細胞は神経要素のマーカーである protein gene product 9.5 (PGP9.5) で標識される事が知られているが、IV 型細胞の組織化学的性質については殆ど知られていない。レクチン組織化学は上皮細胞、間葉細胞の組織学的検索に広く用いられ、味蕾においても何種類かのレクチンが味蕾構成細胞の細胞膜に結合することが報告されているが、それらが味蕾のどの細胞に局在するかは詳細には検討されていない。さらに味蕾の発生段階でのレクチン結合様式についての詳細な検索も行われていない。そこで本研究では発生段階及び成熟した味蕾におけるレクチン、特に *Ulex europaeus* agglutinin-I (UEA-I), Jacalin および Peanut agglutinin (PNA) に注目して、味蕾細胞のマーカーとしてのレクチンの有用性を検討した。

【材料と方法】胎生 18~20 日齢及び生後 0、1、3、5、7、14、21、28、70 日齢の Sprague-Dawley 系ラットを用いた。灌流固定あるいは浸漬固定を行った後、味蕾を含む舌乳頭、口蓋粘膜を切り出し、厚さ 4~5 μ m のパラフィン切片あるいは 20-30 μ m の凍結切片を作成しレクチン組織化学を行った。胎生 20~生後 3 日齢と生後 70 日齢の舌の前部については、コラゲナーゼ処理により舌上皮を剥離し、ホールマウントでレクチン組織化学を行った。

レクチン組織化学はビオチン標識した UEA-I、Jacalin、PNA にて反応後 FITC あるいは Texas Red 標識 streptavidin にて反応し、蛍光顕微鏡にて観察した。レクチンと他の細胞マーカーとの関係は蛍光二重染色を施して観察した。

【結果】成獣の有郭乳頭で UEA-I は味蕾を構成する全ての細胞に結合した。AbH の免疫反応は味蕾内の細胞膜に限局して認められた。二重染色で観察した結果、すべての AbH の免疫陽性を示す細胞膜は、UEA-I にも結合したが、UEA-I に結合した細胞膜の一部は AbH に対する免疫反応は認められなかった。葉状乳頭における UEA-I の結合様式

は有郭乳頭とほぼ同様であった。舌前方部のホールマウント標本で UEA-I 結合部位は茸状乳頭に限局して確認された。鼻切歯乳頭と硬口蓋と軟口蓋の境界の味蕾でも味蕾内のすべての細胞膜は UEA-I に結合していた。胎生 20 日齢では味蕾様構造物は認められないが、UEA-I は有郭乳頭の溝上皮の基底部から先端部に伸びている紡錘形細胞やその近傍の数個の楕円形細胞に観察された。生後 1 日齢では有郭乳頭で味蕾様構造物が確認でき、それらに UEA-I の結合が観察された。生後 3 日齢ではすべての味蕾内の細胞の表面は UEA-I と結合しているのが観察された。生後 7 日齢で UEA-I の結合様式は、成獣とほぼ同様であった。

成獣の有郭乳頭の味蕾において Jacalin は基底部に位置する円形細胞の細胞膜に強く結合し、その他の紡錘形細胞との結合はごく僅かであった。他の味覚上皮においても Jacalin の結合様式は同様であった。PNA の結合様式は Jacalin に類似しており、有郭乳頭の味蕾内の基底部の円形細胞に結合していた。Jacalin と PNA の二重染色において PNA が結合するすべての円形細胞は Jacalin も結合するが、Jacalin が結合する円形細胞の中には PNA が結合しないのもあった。Jacalin 陽性の紡錘形細胞は α -gustducin、PGP9.5 に対して陰性であった。生後 1 日齢において Jacalin は上皮細胞の細胞膜に観察された。生後 3 日齢においては味蕾を除く殆ど全ての上皮細胞に Jacalin は観察されたが味蕾内の細胞には弱い反応しか認められなかった。生後 5～10 日齢では味蕾の基底部の円形細胞が Jacalin 陽性であり、紡錘形細胞の一部が Jacalin と弱く反応した。

【考察と結論】本研究においてラット味蕾での UEA-I、Jacalin、PNA の結合様式を検索した結果、舌上皮および口蓋上皮での結合様式に明らかな差は認められなかった。味蕾はその神経支配が部位によって異なっているが、レクチン結合様式は神経支配とは関係がないことが分かった。

UEA-I は α -fucose と特異的に結合するレクチンであり、本研究により未成熟及び成熟な全ての味蕾に結合することから味蕾全体を標識するマーカーとして有用である事が明らかとなった。

Jacalin と PNA は基底部の円形細胞に認められたが、それらは IV 型細胞であると考えられる。従来ラット味蕾における IV 型細胞のマーカーの存在は明らかでなかったが、本研究において Jacalin、PNA はラット IV 型細胞の有用なマーカーである事が示唆された。さらに Jacalin、PNA は一部の紡錘形細胞にも認められたがこれらは II 型細胞のマーカーである α -gustducin、III 型細胞のマーカーである PGP9.5 陰性であったことから、幼若な I 型細胞であると考えられる。このことから一部の IV 型細胞は I 型細胞へ分化している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

味蕾の構成細胞の細胞系譜については不明な点が多く、それを明らかにするためには、味蕾全体や味蕾を構成する細胞型別に標識するマーカーが必要である。そこで本研究はラット味覚上皮における UEA-I、Jacalin、PNA の局在について検索した。その結果、UEA-I は味蕾を構成するすべての細胞の細胞膜に結合し、Jacalin と PNA は基底部に位置する円形細胞の細胞膜に結合した。以上の事より、UEA-I が全ての味蕾を構成する細胞のマーカーとして、Jacalin と PNA が味蕾の基底部の円形細胞 (IV 型細胞) のマーカーとして有用である事が明らかとなった。

この研究は味蕾の細胞系譜を解明する上で重要な知見を与えるものであり博士 (歯学) の学位に十分値するものと認める。