



Title	ラット有郭乳頭味蕾形成及び再生過程での味覚受容関連遺伝子の発現
Author(s)	岡田, 宏之
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49232">https://hdl.handle.net/11094/49232</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	岡 田 宏 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 9 3 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学 位 論 文 名	ラット有郭乳頭味蕾形成及び再生過程での味覚受容関連遺伝子の発現
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 村 上 伸 也 (副査) 教 授 脇 坂 聡 准教授 小 野 高 裕 講 師 佐 藤 淳

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [研究目的]

ヒトを含む多くの哺乳類は五つの味（塩味、酸味、苦味、甘味、うま味）を識別し、感じることができる。五つの基本味は口腔内の舌乳頭、口蓋上皮、咽頭および喉頭に分布している味蕾の中の味細胞で感受している。口腔内に摂取された食物は唾液や水に溶けて、分子やイオンとして味蕾先端の味孔と呼ばれている小さな穴を介して味細胞の膜に存在する受容体に接触する。味物質の作用で味細胞の細胞内伝達系が活性化し、最終的には味細胞基底部に存在する味覚神経線維とのシナプスを介して電気的興奮が脳に送られて味を感じるとされている。

味覚受容に関する遺伝子についてはこれまで研究されてきている。塩味と酸味受容にはイオンチャネル型受容体である epithelial sodium channel (ENaC) が関与している。苦味、甘味、うま味受容には G 蛋白共役型受容体に関与し、苦味には T2R、甘味には T1R2/T1R3、うま味には T1R1/T1R3 が関与している。さらにうま味には代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) の関与も報告されている。また、主として苦味受容に関与している G 蛋白として  $\alpha$ -gustducin がセカンドメッセンジャーとして働くことが知られている。

ラット有郭乳頭では味孔を持った味蕾は出生後に認められるが、味覚受容に関する遺伝子がいつから発現しているのかについては不明な点が多い。また舌咽神経損傷後の味蕾変性及び再生過程で味覚受容関連遺伝子が発現しているかどうかについても不明である。そこで本研究では味蕾の発生段階及び神経損傷後の味覚上皮における味覚受容関連遺伝子の発現について RT-PCR 法を用いて検討した。さらに、神経損傷後の再生過程における味覚伝達について、ニューロンの活動性の指標となる c-fos の発現を孤束核から視床および視床下部に至る味覚伝導路の中継核である結合腕傍核 (PBN) において検討した。

#### [材料と方法]

実験動物として雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用いた。

#### (1) 有郭乳頭味蕾発生段階における味覚受容関連遺伝子の発現

胎生 14 日齢から生後 28 日齢までのラットを使用した。これらのラットを瀉血し、有郭乳頭を含んだ舌後方 1/3 を迅速に摘出し 37℃、30 分間コラゲナーゼ処理し上皮を回収した。回収した上皮から全 RNA を回収し、全 RNA を逆転写した後、味覚受容関連遺伝子の発現を PCR にて検討した。

## (2) 神経損傷後における味覚受容関連遺伝子の発現

体重約 200 g の成獣ラットの舌咽神経を両側で圧迫損傷した。舌咽神経損傷した日を 0 日とし、6、9、12、15 日目に舌の後方部を摘出した。摘出した舌を急速凍結し、クリオスタットで薄切後、マイクロダイセクションを行い、有郭乳頭溝上皮を回収し、全 RNA を逆転写した後、 $\alpha$ -gustducin と mGluR について PCR を行った。

## (3) 味蕾再生過程における味覚伝達

体重約 200 g のラットを舌咽神経損傷後、6、9、12、15 日目に 4 % 抱水クロラルで麻酔し 0.01 M キニーネを 30 分間舌後方部に滴下した。対照として蒸留水 (DW) を同様に 30 分間滴下した。滴下終了 90 分後に 4 % パラホルムアルデヒドにて灌流固定し、脳幹部を採取し、凍結切片を作製した。その切片に対して c-fos 抗体を用いて免疫組織化学的に、PBN における c-fos 陽性ニューロンを検索し、定量的に解析した。

### [結果]

## (1) 発生段階における味覚受容関連遺伝子の発現

味孔をもった味蕾が形成されるのは出生後であった。ENaC- $\alpha$  mRNA は胎生 18 日齢から発現していた。ENaC- $\beta$  mRNA は胎生 16 日齢から発現していた。T1R1 mRNA は胎生 14 日齢より発現していた。T1R2 mRNA は胎生 16 日齢より発現していた。T1R3 mRNA は胎生 16 日齢より発現していた。mGluR1 mRNA は胎生 16 日齢より発現していた。mGluR4 mRNA は胎生 18 日齢より発現していた。 $\alpha$ -gustducin mRNA は胎生 18 日齢より発現していた。

## (2) 神経損傷後における味覚関連遺伝子の発現

舌咽神経損傷後、味蕾は 9 日目に完全に消失し、15 日目から再生味蕾が認められた。この間  $\alpha$ -gustducin mRNA は発現し続けていた。また、mGluR1 mRNA は損傷後 12 日目で消失した。

## (3) 味蕾再生過程における味覚伝達

正常動物で苦味刺激により PBN の背外側部に c-fos 陽性ニューロンが多く認められた。DW 刺激は背側中央部から背外側部に認められた。神経損傷後 6 日目のラットの苦味刺激に対する c-fos 陽性細胞数は DW に対するその細胞数とほぼ同数であったが、神経損傷後 9、12、15 日目の再生過程においてはラットの苦味に対する陽性細胞数は DW よりも増加していた。

### [考察]

1. 味覚受容関連遺伝子の発現は味蕾が成熟する前の胎生期より発現していた。それぞれの基本味受容に関連する遺伝子として塩味 (ENaC)、酸味 (ENaC)、苦味 ( $\alpha$ -gustducin) は胎生 18 日齢より、甘味 (T1R2/T1R3)、うま味 (T1R1/T1R3 及び mGluR) は胎生 16 日齢より発現していた。このことより発現は個々の基本味により異なり、それぞれ味蕾が成熟していない段階においても味覚受容が行われている可能性が示唆された。
2. 舌咽神経損傷後のラットにおいて苦味受容関連遺伝子の発現が確認されたことにより、発生過程と同様に再生過程においても味蕾が成熟していない段階で苦味の味覚受容が行われている可能性が示唆された。
3. 苦味に対する結合腕傍核における c-fos の発現から、舌咽神経損傷後のラットにおいて再生過程の味蕾が成熟していない段階で苦味の中枢への味覚情報伝達が行われている可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究はラット有郭乳頭の味蕾形成及び再生過程での味覚受容関連遺伝子の発現を分子生物学的に検索し、再生過程における味覚伝達を免疫組織化学的に検索したものである。

その結果、発生過程および再生過程において形態学的に味覚受容関連遺伝子が発現していることが明らかとなり、また再生過程において味覚伝達を行っていることが明らかになった。

以上の研究結果は、発生および再生過程における味覚受容機構の解明に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。