The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ラット有郭乳頭味蕾におけるアポトーシス
Author(s)	一森, 康男
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49257
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

【35】

氏　　名	一　森　康　男（いち もり やす お）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　２１９３７　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におけるアポトーシス**
論文審査委員	（主査） 教　授　脇坂　　聡 （副査） 教　授　由良　義明　　准教授　竹村　元秀　　准教授　中原　寛和

論　文　内　容　の　要　旨

［研究目的］

味蕾細胞の細胞系譜については、いくつかの説があるが、Ⅳ型細胞から分化し最終的にアポトーシスにより細胞死が起こり、その寿命は 10 日前後とされている。しかしながら、どの細胞がアポトーシスを起こすかは知られていない。また、味蕾の形成、維持には味覚神経支配が必要不可欠であり、その支配神経損傷により味蕾が変性することも知られているが、その詳細も不明である。そこで、本研究では、ラット有郭乳頭における正常および支配神経切断後の味蕾変性過程における細胞型とアポトーシスとの関連について検索した。アポトーシスの検出には single-stranded DNA（ssDNA）抗体を用いた。また、各々の細胞型に特異的な蛋白質やレクチンが認められることが報告されており、Ⅱ型細胞のマーカーとしてα-gustducin（Gust）、phospholipase C β2（PLCβ2）、Ⅲ型細胞のマーカーとして neural cell adhesion molecule（NCAM）、Ⅳ型細胞には Jacalin をそれぞれ用いた。さらに、変性過程における味蕾細胞数の変遷についても検討した。

［材料と方法］

実験動物として 200～250 g の雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用いた。

⑴　舌咽神経切断

抱水クロラール（400 mg/kg, i.p.）にて麻酔後、頚部腹側に切開線を作成後、顎下腺、舌下腺を剥離し顎二腹筋を明示した。さらに顎二腹筋後腹を剥離し茎突舌骨筋を外側に引き上げその下にある舌咽神経を左右両側とも切断した。

⑵　切片作成

舌咽神経切断後、１～６日後まで４％パラホルムアルデヒドにて灌流固定した。有郭乳頭を採取し凍結切片を作成した後、ss-DNA 抗体を用いて ABC 法を行い、続いて細胞タイプのマーカーとして Gust、PLCβ2、NCAM、Jacalin のいずれかを用い、味蕾のマーカーとして *Ulex Europeanus Agglutinin-I*（UEA-I）、さらに DAPI を用いて多重染色を施した。

［結果］

⑴　正常動物におけるアポトーシス

味蕾内に ss-DNA 陽性細胞が散見され、味蕾細胞全体の 5.1%が ss-DNA 陽性であった。これら ss-DNA 陽性細胞のうち 15.5%が Gust 陽性を示し、21.5%が PLCβ2 陽性を示したが、NCAM および Jacalin 陽性を示すものは認められなかった。

⑵　舌咽神経切断後の味蕾細胞数の変化

正常動物において、切片上での味蕾一個あたり 31.9 個であった。神経切断後１日目では 31.3 個であるが、切断後２日目になると 21.6 個に減少し、３日目では 15.9 個になり味蕾消失へ向かっていた。

⑶　舌咽神経切断後のアポトーシス

切断後１日目では、ss-DNA 陽性細胞数が著しく増加し味蕾細胞全体の 10.0%となった。そのうち、Gust 陽性を示すものは 23.1%、PLCβ2 陽性は 29.6%、NCAM 陽性は 7.6%、Jacalin 陽性は 14.5%であった。切断後２日目では、ss-DNA 陽性細胞は 10.1%となった。そのうち、Gust 陽性を示すものは 24.8%、PLCβ2 陽性は 28.7%、NCAM 陽性は 6.2%、Jacalin 陽性は 12.9%であった。切断後３日目では、ss-DNA 陽性細胞は２日目より減少し 9.0%となり、味蕾の変性が表出し、大きさも小さくなった。ss-DNA 陽性細胞のうち、Gust 陽性を示すものは 18.9%、PLCβ2 陽性は 25.4%、NCAM 陽性は 8.7%、Jacalin 陽性は０%であった。切断後４日目以後では、味蕾の変性が顕著となり計測が困難になった。

これらのことより、味蕾変性過程では、正常動物と違い、Ⅲ型、Ⅳ型細胞でもアポトーシスを起こしていた。

［考察］

１．正常動物では、Ⅱ型細胞にアポトーシスが起こり、Ⅲ型およびⅣ型細胞にはアポトーシスは認められなかった。アポトーシスを示す細胞の 21.5%がⅡ型細胞であることからⅠ型細胞もアポトーシスを起こしていると考えられる。以前の我々の研究で、Ⅱ型、Ⅲ型細胞は組織化学的に類似し相関関係があることを示しており、これらよりⅠ型およびⅡ型細胞が分化の最終段階と思われる。つまり、味蕾細胞の分化様式はⅣ型細胞からⅠ型あるいはⅢ型に分化しさらにⅢ型がⅡ型に分化する二つの細胞系譜が存在することが示唆された。

２．舌咽神経切断後では、正常動物ではアポトーシスが認められなかったⅢ型、Ⅳ型細胞にもアポトーシスが検出され、味蕾変性過程においてはすべての細胞がアポトーシスを起こすことにより急速に味蕾消失へ向かうことがわかった。また、神経切断後１日目にアポトーシス細胞数は急激に増加し味蕾細胞数は神経切断後２日目から急激に減少することから、２日目から味蕾細胞消失が加速度的に進むことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ラット有郭乳頭味蕾における正常および支配神経切断後の変性過程における細胞型とアポトーシスとの関連について検討した。その結果、正常動物ではⅡ型細胞にアポトーシスが認められⅢ型およびⅣ型細胞にはアポトーシスは認められなかった。これらから、味蕾細胞の分化様式はⅣ型細胞からⅠ型細胞あるいはⅢ型細胞に分化し、さらにⅢ型がⅡ型に分化することが示唆された。また、神経切断後の味蕾変性過程においてはすべての細胞型がアポトーシスを起こすことがわかった。

以上の研究結果は、味蕾におけるアポトーシスと細胞型に関する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。