

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 620 号	学位申請者	小柳 江梨子
審査委員	主査	松口 徹也	学位
	副査	佐藤 友昭	副査
	副査	山中 淳之	副査
			博士 (歯学)
			田松 裕一
			嶋 香織

## Type II/III cell composition and NCAM expression in taste buds

## (味蕾におけるⅡ型・Ⅲ型の細胞構成およびNCAMの発現)

味蕾は、機能的に成熟し味孔まで伸長した3種類の味細胞(Ⅰ型・Ⅱ型・Ⅲ型)と、その前駆細胞である基底細胞で構成され、口腔では有郭乳頭・茸状乳頭・葉状乳頭・軟口蓋などの領域に局在する。味蕾基底細胞は幹細胞から供給され、味蕾細胞はおよそ10~14日の周期でターンオーバーする。Ⅱ型細胞は甘味/うま味/苦味を受容し、Ⅲ型細胞は酸味を受容するとされていたが、近年、Ⅱ型細胞とⅢ型細胞は忌避性の高濃度塩味も受容すること、Ⅲ型細胞の約半数は甘味/うま味/苦味も受容することが示された。さらに、グリア様のⅠ型細胞は嗜好性の低濃度塩味を受容することが示され、味蕾細胞の多様性に関する解析が急速に進んでいる。しかし、解析の基盤となる細胞型マーカーには、味蕾が存在する口腔内の全ての領域に共通して各細胞型に特異的であるか十分に検証されていないものがある。また、個々の味蕾のⅡ型・Ⅲ型細胞の構成比は、有郭乳頭・茸状乳頭など領域ごとに一定であるとされているが、これはⅡ型・Ⅲ型を別個に解析した結果に基づく推測に過ぎない。そこで申請者は、Ⅲ型細胞マーカーとして最も古くから用いられているにもかかわらず、有郭乳頭以外での解析が十分でない神経細胞接着因子(neural cell adhesion molecule: NCAM)に着目して解析を進めた。細胞型特異性を解析するために、まず、Ⅱ型・Ⅲ型細胞での機能がそれぞれ明らかにされているイノシトール三リン酸受容体3型(IP3R3)と炭酸脱水酵素4型(CA4)のホールマウント免疫染色を有郭乳頭・茸状乳頭・軟口蓋で行い、これらの細胞型マーカーとしての信頼性を確認すると同時に、個々の味蕾におけるⅡ型・Ⅲ型の細胞構成を解析した。次いで、個々の味蕾におけるNCAMの発現を解析した。その結果、以下の知見が得られた。

- 1) 味蕾内のIP3R3(+)細胞とCA4(+)細胞は互いに独立していた。
- 2) 個々の味蕾に含まれるⅡ型・Ⅲ型細胞の数は大きくばらついており、構成比は一定ではなかった。一方、味蕾のⅡ型・Ⅲ型細胞数の平均の比は、各領域で従来報告されていた比とほぼ一致した。
- 3) NCAMは各領域でCA4と共発現していたが、完全には一致せず、有郭乳頭では53%、茸状乳頭では14%、軟口蓋では60%の味蕾にNCAM(+)CA4(-)細胞がみられた。各味蕾のNCAM(+)CA4(-)細胞の数は、味蕾の大きさに関わりなく、それぞれ1~4個であった。
- 4) NCAM(+)CA4(-)細胞は味孔まで伸長していない未成熟な形態の細胞を含んでいた。
- 5) NCAM(+)CA4(-)細胞は、有郭乳頭では全てIP3R3(-)であった。しかし、軟口蓋では83%、茸状乳頭では67%がIP3R3(+)で、NCAMはIP3R3と共発現していた。
- 6) NCAM(+)CA4(-)細胞を含む味蕾と含まない味蕾を比較したが、成熟細胞の数に有意差はなかった。

本研究は、IP3R3とCA4の細胞型マーカーとしての信頼性を示すとともに、Ⅲ型細胞マーカーとされてきたNCAMが茸状乳頭・有郭乳頭ではⅡ型細胞でも発現することを明らかにした。また、個々の味蕾に含まれる細胞型の割合は一定ではなく、極めて大きくばらついていることを明らかにした。これは味蕾細胞のターンオーバーの過程で、各細胞型が前駆細胞から常に一定の割合で分化するのではないことを示唆している。また、未成熟であると考えられるNCAM(+)CA4(-)細胞を含む味蕾と含まない味蕾の間で成熟細胞の数に差がみられなかったことから、味蕾に含まれる細胞の総数に変動していると推測される。このように本研究の結果は、細胞のターンオーバーによって、味蕾が従来考えられてきたよりもダイナミックに変化している可能性を示しており、動物個体としての味覚機能の恒常性は、個々の味蕾レベルではなく、各領域に含まれる味蕾の総和として維持されていると推測される。

本研究は、味蕾のⅡ型・Ⅲ型の細胞構成およびNCAMの発現を味蕾単位で詳細に解析し、味蕾研究の基盤の1つであるⅢ型細胞マーカーNCAMの特異性の問題を明らかにした。また、各領域内では味蕾におけるⅡ型・Ⅲ型の細胞構成はほぼ一定である、という定説を覆した。個々の味蕾の細胞構成は細胞のターンオーバーによって大きく変化するが、領域として味覚機能が一定に保たれるという味覚恒常性に関するモデルは非常に興味深く、本研究のさらなる発展に期待したい。以上に基づき、本研究は学位論文として十分な価値を有すると判定した。