

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 岸 幹 也

味覚の研究は、近年になって味覚受容体の発見など著しい進展がみられる。しかし、味覚器である味蕾を構成する細胞の生理学的・生化学的知見に関しては、多くの不明な点が残されている。本論文は、味受容と味覚伝達機構の解析系の構築と試験管内での味蕾細胞の特性・機能解明をめざして、味蕾細胞の初代培養系を確立し、この系における細胞生理学的性質の解析を行い、遺伝子導入による形質変換が可能であることを初めて示した。

本論文は、序章に続いて以下に概説する1章～3章で構成される。

第1章は、味蕾細胞の初代培養方法の確立について述べている。細胞培養に重要な接着因子の解析を端緒として、味蕾の単離方法と培養液の検討を行い、2日以上に亘って高い生存性を有する培養方法を確立した。味蕾細胞マーカーであるサイトケラチン8は、この方法で培養した味蕾細胞でも全ての細胞で発現しており、味細胞マーカーであるホスホリパーゼ(PL)C- β 2は一定頻度で発現していた。また、PLC- β 2は3型イノシトール三リン酸受容体と共発現し、この一部では味覚特異的Gタンパク質であるガストデュエシンを発現しており、*in vivo*における味蕾細胞と同一の発現相関が見られた。以上、味蕾細胞の特徴を備えた初代培養細胞系を確立した。

第2章では、上記の培養系の確立に当たって、特筆すべき2つの味蕾細胞特有の細胞生理学的現象を詳細に検討した結果を述べている。まず、単離味蕾細胞の接着性と接着因子の関係について、最も接着性の高いマトリジェル以外にも、ラミニンやフィブロネクチンという単独の細胞外マトリクス成分に接着性を示し、これらをリガンドとするインテグリン受容体が味蕾細胞に発現している可能性が予想された。また、培養液中のカルシウムイオン濃度が細胞形態と接着性に対して与える影響について詳細に検討し、低カルシウムイオン条件下では細胞間接着性は著しく弱く細胞は広がった形態を示すこと、また、高カルシウムイオン条件下では細胞間接着性が強く塊状の形態をとることがわかった。さらに、こうした性質は可逆的であること、そして、カルシウムイオンに特異的であることがわかった。したがって、味蕾細胞の接着や形態には、細胞外カルシウムイオンが大きな役割を持っていることが推測された。

第3章の研究においては、細胞内において機能分子を発現させることができれば味細胞を含む味蕾細胞の解析とその応用を行うために有用な実験系となると考え、初代培養味蕾細胞に遺伝子導入を行う方法を検索し、これを確立した。複数の遺伝子導入方法を試みた結果、アデノウィルスベクター系を用いたときのみ、効率90%以上で外来遺伝子を導入することに成

功した。次に、機能的遺伝子として味覚受容体と同様に細胞内カルシウムイオン濃度上昇の細胞応答を引き起こす $\alpha 1$ アドレナリン受容体をアデノウィルスにより導入し、導入細胞の細胞内カルシウムイオン濃度のリガンド応答性を観察した。その結果、遺伝子が導入された細胞の約50%においてリガンドに応答した細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が観察され、遺伝子導入によって発現した分子が機能的であることが示された。

以上、本論文は、これまでは非常に遅れていた味蕾細胞の培養を可能にしたほか、味蕾細胞および味覚研究に新たな解析法とその展望を与えたものであり、学術上、応用上寄与するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。