

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 應 本 真

我々は様々な味を感覚として認識しており、この感覚を味覚と呼ぶ。味覚が生じる過程は、末梢感覚組織である味蕾中の味細胞による呈味物質の受容から始まり、その情報が末梢感覚神経である味神経、さらに中枢へと伝達され、大脳辺縁系へと到達して認識されるまで、様々な細胞間の情報伝達の過程である。近年、味細胞の味覚レセプターや細胞内シグナリング系の解明など、味の受容機構の解明には著しい発展がみられている反面、味蕾を構成する多様な細胞について、味細胞以外の細胞の役割は何なのか、どのようにして細胞の多様性が生じるのかなど、不明な事柄が多い。また、味の情報がどのように神経系へ伝達され、神経伝達経路においてどのように分離・統合されるのかなど、味の情報伝達に関してはほとんど何も分かっていない。本論文は、味蕾と味神経に関する分子知見を取得すること、そのために未だ同定されていない味神経細胞を同定すること、そして味のコーディング機構を解明することを目指して行われたものであり、3章から構成される。

第1章では、味蕾細胞の遺伝子発現プロファイリングを行った結果が述べられている。まず、味蕾に発現する分子知見を得るため、味蕾細胞のDNAマイクロアレイ解析を行った。有郭乳頭上皮および非乳頭舌上皮のDNAマイクロアレイデータと味蕾細胞のそれと比較することにより、味蕾における発現量が上皮組織と統計学的有意に異なる遺伝子群を抽出した。こうして得られた味蕾細胞の遺伝子発現データは、その中に既知の味蕾特異的遺伝子の大多数が含まれていることから、味蕾特異的遺伝子を検索する際の基盤となるデータベースとして非常に有効であることが示唆された。さらに、このデータベースを基に、味細胞の再分極を担う候補分子である電位依存性カリウム (K_v) チャネルをコードする3遺伝子を同定した。また、その過程において、味細胞が発現する K_v チャネルの種類が細胞齢と相関して異なることを明らかにした。

第2章では、味蕾の初代培養細胞を用いて、味細胞特異的発現に関与する PLC- β 2 遺伝子の5'上流域を解析した結果が述べられている。PLC- β 2 は味覚レセプターT1Rs 発現細胞および T2Rs 発現細胞に発現しており、PLC- β 2 遺伝子の転写制御領域を取得することは、味細胞全体を対象とした遺伝子工学的解析を可能にすると期待される。ヒトおよびマウスの PLC- β 2 遺伝子の構造を比較し、開始メチオンより5'上流約5 kbの範囲に保存性の高い領域が存在することを見出した。次いで、味蕾の初代培養細胞を用いたエンハンサー/プロモーターアッセイにより、マウス PLC- β 2 遺伝子の開始メチオンより5'上流約5 kbは、味細胞特異的発現を誘導することを明らかにした。

第3章では、経シナプストレーサーとして機能する小麦胚芽レクチン (WGA) を用いた味覚神経回路の可視化を試みた結果が述べられている。味神経細胞の同定および味覚情報

のコーディング機構解明の第一歩として行われたものである。始めに、甘味 / 旨味 / 苦味受容細胞すべてに発現する PLC- β 2 遺伝子およびすべての甘味 / 旨味受容細胞に発現する T1R3 遺伝子の転写制御領域を用い、WGA により味細胞からの味覚情報の伝達経路を標識するトランスジェニックマウスをそれぞれ作製することを試みた。味蕾内における外来遺伝子の発現を容易にするため、蛍光タンパク質 GFP を共発現するトランスジーン (WGA-ires-GFP) が導入されたトランスジェニックマウスでは、味蕾においては内在遺伝子が発現する細胞に GFP および WGA が検出されたものの、神経系における WGA の存在を検出することはできなかった。そこで、共発現する蛍光タンパク質が WGA の発現を低減させている可能性を考慮し、甘味 / 旨味受容細胞に WGA のみを発現させるような T1R3-WGA トランスジェニックマウスを作製した結果、味細胞における WGA の発現量がおよそ 2 桁増大した。これらのマウスでは、味神経が存在する感覚性脳神経節および最も末梢側に存在する中枢神経系味覚情報中継核である延髄孤束核まで WGA が輸送されている様子が観察された。その結果、これまで全く実体が不明であった味神経細胞を同定することが可能となった。また、甘味 / 旨味受容細胞から延髄孤束核までの味覚伝達経路が可視化できたことにより、これらの組織における味覚情報の伝達機構解明の非常に有用な実験動物が得られたことになる。

以上、味蕾細胞の遺伝子発現プロファイリングと味覚神経回路の可視化を基盤とした本論文は、味覚研究に新たな展望を与えるものであり、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のあるものと認めた。