

## 論文審査の結果の要旨

氏名 濱道良子

本論文は、序論、第一章から第四章、および総合討論からなる。序論では、味覚研究の背景を述べ、味蕾細胞の発生や分化に関する記述を行い、さらに本研究を行う上で参考とした嗅覚・神経系・筋肉系の発生・分化について概説されている。第一章には、味蕾細胞の経時的な解析が述べられている。まず、5-ブロモデオキシウリジンを投与することによって増殖細胞を標識し、味蕾細胞を経時的に解析する方法を確立したことが示され、次に、この方法を用いて味蕾細胞の寿命を詳細に解析した結果が述べられている。この味蕾細胞の寿命の解析結果から、従来は味蕾細胞の寿命は約 10 日であると言われてきたが、実際には味蕾細胞の寿命は一様ではなく、短い寿命の細胞集団と長い寿命の細胞集団とに分けられることが示されている。第二章には、味蕾特異的に発現する分子の探索とその発現解析が述べられている。まず、味蕾細胞が感覚細胞であることに着目し、感覚系や神経系の細胞の分化段階において複数の分子種が分化カスケードを構成して発現する bHLH 転写因子群の味蕾における発現解析を行っている。その結果、味蕾においては bHLH 転写因子群の中で Mash1 のみが明確な発現を示し、他の感覚細胞のように複数の bHLH 転写因子が順次発現する分化カスケードは存在していない可能性が示されている。さらに、味覚シグナル伝達に含まれるカルシウムシグナリングに着目し、細胞内カルシウム濃度上昇により活性化し、分化に関係する二つの転写因子群 (MEF2 ファミリーおよび NFAT ファミリー) の味蕾における発現解析を行い、二つのファミリーからそれぞれ一つの分子種、すなわち MEF2D と NFATc4 が味蕾細胞特異的に発現していることを新たに見出している。また、これらと味覚受容細胞のマーカーである PLCβ2 との発現細胞の関係性を解析した。多重染色像の結果から、これらの二つの転写因子は味覚受容細胞特異的に発現していることが示されている。第三章には、味蕾特異的に発現する分子の経時的発現解析が述べられている。味蕾細胞の分化マーカーである Mash1、味覚受容細胞で味覚シグナル伝達に関与するマーカーである PLCβ2、さらに第二章で味蕾における発現を新たに見出した MEF2D, NFATc4 について、それぞれの発現と BrdU シグナルとの多重染色像を用いて、発現の経時変化を解析している。この解析結果から、細胞分裂後 5~6 日目に Mash1 を発現する分化段階にある細胞系列が存在すること、味覚受容細胞は味蕾細胞の平均寿命よりも長期間生存し、従来言われてきた寿命である 10 日目以降から機能が高まり、一ヶ月程度まで生存・機能してい

ることが示されている。また、味覚受容細胞は、他のタイプの味蕾細胞よりも相対的に長寿命であることも新たに示されている。第四章には、第二章で見出した味覚受容細胞に発現する転写制御因子である MEF2D による PLCβ2 の転写活性制御の解析が述べられている。第三章までの結果から示唆される MEF2D による PLCβ2 遺伝子の転写制御の可能性を、培養細胞を用いて検討している。すなわち、MEF2D やカルシウムシグナリングに関係する内在性の因子を含むヒト T 細胞由来の細胞株である Jurkat 細胞を用いて、ルシフェラーゼレポーター遺伝子の発現を分析することで MEF2D による PLCβ2 エンハンサー・プロモーターに対する転写制御の検討を行っている。その結果、MEF2D は PLCβ2 遺伝子を細胞内カルシウム濃度上昇に依存的して直接活性化する可能性が示されている。PLCβ2 の転写制御に関与する転写制御因子の知見は、本論文で示した MEF2D が初めての報告である。総合討論には 3 つの内容が含まれている。一つ目には、第一章から第三章までの結果から得られた味蕾細胞の形成と味覚受容細胞の分化に関する結論が述べられている。具体的には、本論文により明らかになった味蕾細胞の一生の全体像を図で示し、味蕾における多段階の細胞選別維持機構と味覚受容細胞における段階的な成熟シグナルの可能性について考察している。二つ目には、第四章の結果から導き出される味覚受容細胞における味覚シグナル伝達因子の転写ネットワークについて述べられており、クロマチン構造の変化を含めた味蕾細胞の転写ネットワークについて新たな提案を行っている。三つ目には、今後の味蕾研究の方向性が示されている。

なお、本論文第一章、および第二章と第三章の一部は、浅野・三好 美咲博士・榎森 康文准教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。