

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 前田 尚廣

論文題目 味覚伝導路における遺伝子発現プロファイリングを基盤とした味覚識別機構の解析

食品中の呈味物質は口腔内上皮層に分布する味蕾中の味細胞で受容される。甘味、旨味、苦味、酸味、塩味はそれぞれ異なる味細胞で受容され、それらの情報は、顔面神経膝神経節 (GG)、舌咽神経下神経節 (PG)、迷走神経下神経節 (NG) に由来する味神経に伝達され、延髄孤束核 (NST)、橋結合腕傍核 (PBN) などを伝達され、認識にいたる。異なる味情報が、神経系においても異なる細胞を介して伝達されるのか、部分的にも統合されるのかという、味覚情報のコーディング機構に関する知見は少ない。小麦胚芽レクチン (WGA) はシナプスなど物理的に非常に近接した部位を介して連絡する神経細胞間を移動する性質を持ち、特定の神経経路の標識に有用である。当研究室では、甘味・旨味受容体 T1R3 のプロモーター制御下で WGA を発現するトランスジェニックマウス (t1r3-WGA マウス) を作製し、甘味・旨味細胞から NST に至るまでの甘味・旨味伝導路を WGA で標識することに成功している。本研究では、このような背景を踏まえ、味覚情報のコーディング機構を解明することを目的とした。

第 1 章 t2r5-WGA マウスによる苦味情報伝達経路の可視化

苦味受容体 T2R5 の開始コドンの 5' 上流約 12.7 kb に WGA のコード領域を連結させたトランスジーンを用い、苦味細胞特異的に WGA mRNA が発現するマウス (t2r5-WGA マウス) を作製した。このマウスでは苦味細胞と味蕾に投射する神経線維には WGA タンパク質が検出されたが、甘味・旨味細胞や酸味細胞には WGA のシグナルは観察されなかった。これらより、苦味情報がシナプス構造を持たない苦味細胞から味神経へと直接伝達されることが示唆された。GG と NPG (マウス NG と PG が混成した組織のこと) の一部の細胞に WGA タンパク質が検出された一方、NST では検出されなかった。このように、味神経までの苦味伝導路の可視化に成功した。

第 2 章 味覚情報を伝達する神経細胞の分子特性の解析

当研究グループでは、t1r3-WGA、t2r5-WGA マウスに加え、酸味伝導路の一部が NST まで可視化されたマウス (pkd113-WGA マウス) が作製されている。本章では、これらのマウスにおける WGA 陽性神経細胞の分子特性の比較により、味覚情報のコーディング機構の解明を試みた。

DNA マイクロアレイ解析や、Allen Brain Atlas (<http://www.brain-map.org/>) の検索により、感覚

性脳神経節や NST に発現する遺伝子の探索を行い、各組織における WGA タンパク質と各遺伝子の mRNA シグナルとの相関を解析した。

t1r3-WGA、t2r5-WGA マウスの GG および NPG、pkd113-WGA マウスの NPG において、WGA 陽性細胞のほとんどが P2X2、Scube1、Eya1、Atp2b4 を発現しており、これらは味神経細胞集団の全体に発現することが明らかとなった。t1r3-WGA マウスの GG では WGA 陽性細胞の約半数が Eya2 を発現していたが、t2r5-WGA マウスの GG では Eya2 と WGA の重なりはほとんど観察されなかった。このことから、GG では、甘味・旨味情報の一部は苦味情報とは異なる神経細胞を介して伝達されることが示唆された。NPG においても、5-HT3A、5-HT3B、VIP の発現様式の解析より、末梢の T1R3 発現細胞に選択的に投射し、苦味細胞、酸味細胞には投射しない神経細胞集団が存在することが見出された。このように部分的にも甘味・旨味伝導路が苦味や酸味の伝導路と分離していることが明らかとなった。

次に t1r3-WGA、pkd113-WGA マウスの NST における WGA 陽性細胞の分子特性の解析を行った。味神経細胞が最も多く投射する領域に高頻度に強く発現していた Tac1、Nnat、Itih3 と WGA の相関を調べた。その結果、t1r3-WGA、pkd113-WGA マウスともに、NST に観察される WGA のシグナルのほとんどに Tac1 のシグナルが観察された。一方、Nnat および Itih3 を発現する WGA 陽性細胞は観察されなかった。このように、NST の甘味・旨味、苦味を伝える神経細胞の分子特性が明らかとなった。

第 3 章 橋結合腕傍核の遺伝子発現特性

PBN は十個程度の亜核から構成され、味覚以外の感覚を伝える神経細胞も存在する。本章では、ラットの PBN およびその近傍にある三叉神経主知覚核の DNA マイクロアレイデータを比較し、PBN により多く発現する遺伝子を探索した。各遺伝子の橋における発現分布を調べた結果、32 個の遺伝子が PBN に豊富に発現し、PBN 全体に発現するものや特定の亜核に発現するのが見出された。各亜核におけるシグナルの頻度を指標としてクラスター解析を行い、亜核間の類似性を調べた結果、亜核の配置と遺伝子発現特性には強い相関があり、味刺激に応答する亜核は遺伝子発現特性が類似していることが示唆された。

本研究は、味覚伝導路における神経細胞の分子生物学的解析を通じ、甘味・旨味、苦味、酸味を感じ、その情報を中枢へ伝達する仕組みを解明しようとしたものであり、味覚情報を伝達する神経細胞の分子知見をいくつか取得できたことも大きな成果の 1 つである。

結論

味覚研究分野において本研究は、学術上、応用上貢献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。