

博士(甲)論文審査及び最終試験結果報告書

2023年 1月 7日

人間環境科学研究科教授会 殿

論文審査及び最終試験委員

主査 濱田 俊

副査 奥村 文彦

副査 松尾 亮太

副査 八木 健

論文審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

専攻及び課程	学籍番号	氏 名	
人間環境科学専攻 博士後期課程	20dhe601	生田 李緒	
審査論文題目	味受容細胞シナプスの分子構築に関する形態学的研究 Morphological study on the molecular architecture of synapses in taste buds		
論文審査及び最終試験結果	(合) 否		
	審査基準項目別の審査結果		
	番号	審査基準項目	評価 [※]
	1	学術上の創意工夫・新規性	A
	2	得られたデータの取扱いの適切さ	A
	3	先行研究の取扱いの適切さ	A
	4	論旨の明確性・一貫性	A
	5	表現・表記法の適切さ	A
	6	構成の体系性	A
	(※ 各項目の評価は、A(優)、B(良)、C(可)、D(否)の4段階で行う)		
博士論文提出資格取得日	2022年 12月 7日		
博士後期課程退学日	年 月 日		

論文審査及び最終試験結果の要旨

味覚の受容器である味蕾には、形態で区別される2種類の味受容細胞、Ⅱ型細胞とⅢ型細胞が存在する。両者は形成するシナプスの形態も大きく異なっていると同時に、受容する味も異なっており、Ⅱ型細胞は甘・旨・苦味を、Ⅲ型細胞は酸味を受容する。味覚神経線維は主に1種類の味に反応することから、個々の味覚神経線維はⅡ型細胞とⅢ型細胞をそれぞれ識別し、シナプスを形成していると考えられるが、その分子機構は不明である。本論文では、まずⅡ型細胞シナプスとⅢ型細胞シナプスを免疫組織化学法により弁別・可視化する方法を確立し、その後、中枢神経系においてシナプス形成の標的識別に関与することが知られている古典的カドヘリンが、Ⅱ型細胞およびⅢ型細胞特異的なシナプス形成にも関与しているかどうかを検討した。

Ⅲ型細胞シナプスは、他の化学シナプスと同様にシナプス小胞の開口分泌により情報伝達を行っているが、これまでⅢ型細胞シナプス部のみを可視化できる分子マーカーは知られていなかった。本論文ではシナプス前足場たんぱく質である Bassoon がⅢ型細胞シナプス部に一致して局在することを光学・電子顕微鏡レベルの免疫組織化学法により示し、Ⅲ型細胞シナプスマーカーとして利用できることを示した。一方、Ⅱ型細胞シナプスは電位依存性 ATP チャネルである CALHM1/3 により神経伝達物質 ATP を放出することから、CALHM1 に対するラット・モノクローナル抗体を作成し、光学・電子顕微鏡レベルでの免疫組織化学法によりⅡ型細胞シナプス部を標識できることを示した。

古典的カドヘリンが味受容細胞シナプス部に存在するのかどうか検討するため、主に神経系で発現がみられ、古典的カドヘリンと複合体を形成する α N-カテニンの局在を、Bassoon および CALHM1 との多重免疫組織化学法により検討した。その結果、CALHM1 と Bassoon の局在部位に近接ないしは重なって α N-カテニンが検出され、Ⅱ型およびⅢ型細胞シナプスやその近傍に古典的カドヘリンによる接着領域があることが示唆された。

次に、古典的カドヘリンの1つで、これまでに味蕾での発現が明らかになっている N-カドヘリンの局在について免疫組織化学法により検討した。光学顕微鏡レベルでは N-カドヘリンはほぼⅡ型細胞特異的に発現しており、電子顕微鏡レベルでは N-カドヘリンは主にⅡ型細胞の細胞膜に局在していた。細胞膜に N-カドヘ

リンの局在がみられるⅡ型細胞に隣接する細胞膜の大部分では N・カドヘリンの局在が見られない一方で、神経線維と接したⅡ型細胞シナプスと考えられる領域では、隣接する細胞膜に N・カドヘリンの局在がみられた。N・カドヘリンは主にホモフィリックな細胞接着に関わることから、この観察結果はⅡ型細胞の N・カドヘリンが他の味蕾細胞との接着ではなく、神経線維とのシナプス形成に関与していることを示唆していると考えられた。本研究で得られた α N・カテニンおよび N・カドヘリンの局在様式から、Ⅱ型細胞シナプスの形成には N・カドヘリンが、Ⅲ型細胞シナプスの形成には N・カドヘリン以外の古典的カドヘリンが関与していることが示唆された。

本研究により、味受容細胞のシナプスを研究するためのツールが得られたことは味覚器研究における重要な貢献である。また、味受容細胞型特異的なシナプス形成の分子機構に古典的カドヘリンによる細胞接着が関与するのではないかという実験的に検証可能な仮説が得られたことも高く評価できる。公開審査の際には副査および出席者から出た質問にも概ね適切に回答できており、本論文は博士の学位（人間環境科学）の授与に十分値するものと認められた。