

氏 名 (本籍) : ^{かね} 金 ^た 田 ^{なお} 直 ^と 人

学位の種類 : 博 士 (歯 学) 学位記番号 : 歯 博 第 5 9 4 号

学位授与年月日 : 平成 24 年 3 月 27 日 学位授与の要件 : 学位規則第 4 条第 1 項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : 舌乳頭擦過試料におけるうま味受容体遺伝子発現の解析

論文審査委員 : (主査) 教授 笹 野 高 嗣

教授 林 治 秀 教授 佐々木 啓 一

論 文 内 容 要 旨

超高齢化を背景に、我が国の味覚障害患者は急増していると言われている。一方、高齢者のみならず、食生活の欧米化などを背景として、若年者の味覚障害者も増加していることが指摘されている。しかしながら、味覚障害は検査・診断・治療の対象となる疾患として広く認識されている状況とは言い難く、味覚外来を設置し味覚検査を実施している施設は少数に過ぎない。その理由として、体系化された診断法がないことが指摘されている。

現在、味覚障害の診断は電気味覚検査、および甘味・塩味・酸味・苦味の基本 4 味を用いた濾紙ディスク法による味覚閾値の測定によって行われている。我々は、現行の味質検査法が基本 4 味を対象としたもので、第 5 の基本味である「うま味」に対する検査法が欠落していることに着目し、「うま味」感受性検査法を開発した。本検査法を味覚障害患者に対し実施した結果、4 基本味の感受性は正常でありながら、「うま味」感受性のみが低下している高齢者を多数検出したことから、うま味検査法の必要性について指摘した。しかしながら、従来の味覚検査法はすべて患者自身の主観に依存した感受性評価であるため、客観的な検査法とは言えない。

そこで、本研究ではうま味受容体候補である T1R1, T1R3, mGluR1 および mGluR4 の遺伝子発現に着目し、舌乳頭の擦過試料を用いた客観的味覚検査法の確立を目的とした。

実験 I では、舌乳頭の擦過試料に味細胞が存在することを味細胞に特異的に発現している Gustducin をマーカーとして免疫細胞化学染色法により検討した。次に、House Keeping Gene である β -actin、上記 Gustducin およびうま味受容体遺伝子の特異的プライマーを選定することにより擦過試料のリアルタイム PCR 解析を行った。さらに、増幅した PCR 産物のシーケンス解析を行い、ターゲット遺伝子の増幅を確認した。また、実験 II では、舌乳頭へのうま味 (MSG) 刺激が受容体遺伝子発現を惹起するのではないかとの仮説を立て、健常被験者の舌乳頭へのうま味刺激が味細胞の味覚受容体遺伝子の発現

動態に与える影響について検討することとした。

その結果、実験Ⅰにおいて舌乳頭擦過試料に味細胞が含まれること、および、リアルタイム PCR 法を用いたシーケンス解析によりヒト由来の β -actin, Gustducin およびうま味受容体遺伝子が特異的に増幅されることが示された。また、実験Ⅱでは、ヒト舌へのうま味 (MSG) 刺激により、T1R1 および T1R3 受容体遺伝子の発現量が刺激直前に比べて刺激 1 時間後に有意に増加することが示された。

以上の結果、舌乳頭擦過試料のうま味受容体遺伝子発現解析により客観的味覚検査法の臨床応用の可能性が示唆された。

審 査 結 果 要 旨

超高齢化を背景に、我が国の味覚障害患者は急増している。一方、高齢者のみならず、食生活の欧米化などを背景として、若年者の味覚障害者も増加している。しかしながら、味覚障害に対する体系化された診断法は確立されておらず、そのため、味覚障害は診断・治療の対象となる疾患として広く認識されている状況とは言い難い。

現在、味覚障害の診断は電気味覚検査、および甘味・塩味・酸味・苦味の基本 4 味を用いた濾紙ディスク法による味覚閾値の測定によって行われており、いずれの方法も患者の主観に頼る定性的な方法であり、客観的な定量方法としては確立されていない現状がある。また、第 5 の味質として認識されつつある「うま味」については、主観的な検査法すら開発されていない。

以上を背景として、本研究ではうま味受容体候補である T1R1, T1R3, mGluR1 および mGluR4 の遺伝子発現に着目し、客観的味覚検査法の確立を目的として研究を進めている。

まず、舌乳頭を擦過することによって味覚受容体遺伝子を採用できるかどうかについて検索している。方法として、舌擦過試料において、味細胞で特異的に発現している Gustducin をマーカーとして免疫細胞化学的検討を行い、次に House Keeping Gene である β -Actin, 上記 Gustducin およびうま味受容体遺伝子の特異的プライマーを選定することによりリアルタイム PCR 解析を行っている。さらに、増幅した PCR 産物のシーケンス解析を行い、ターゲット遺伝子の増幅について検索している。次いで、臨床応用に向けての基礎的試料を得るために、舌乳頭へのうま味 (MSG) 刺激がうま味受容体遺伝子発現を惹起するのではないかと仮説を立て、健常者の味細胞におけるうま味受容体遺伝子の発現動態および味覚刺激に対する応答について検討している。

その結果、以下の事柄について明らかにしている。

①舌乳頭擦過試料中に免疫染色により味蕾様構造の細胞を認め、かつ、リアルタイム PCR 法を用いたシーケンス解析によりヒト由来の β -actin, Gustducin およびうま味受容体遺伝子が特異的に増幅されていることを明らかとし、本法による味覚受容体遺伝子発現の評価が可能であることを示している。

②ヒト舌へのうま味 (MSG) 刺激により、T1R1 および T1R3 受容体遺伝子の発現量が刺激直前に比べて刺激 1 時間後に有意に増加することを示している。

以上、本研究成果は臨床において、安全な方法で舌を擦過し試料を採取することによって、味覚受容体遺伝子の発現を定量的に解析することが可能であることを示している。本研究は、新たな客観的味覚診断法の開発の可能性を示唆した注目すべき内容であり、今後の味覚研究および味覚障害の診断に寄与することは多大である。よって、本研究は博士 (歯学) の学位授与に値するものと認める。