

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 家木 誉史

食品中の呈味物質は、味蕾中の味細胞で受容される。味細胞で受容された味の情報は味神経を介して脳の味覚中枢へ伝達され、味として認識されるが、味の情報伝達・認識に関わる神経細胞の同定はごく一部しかなく、未解明な部分が多い。味の情報伝達・認識に関わる神経細胞を同定することは、我々が食品の味を認識する機構を明らかにする上で非常に重要である。本論文は、トランスジェニック (Tg) 個体の作出が容易である、個体サイズが小さく遺伝子の発現分布の網羅的な解析が行い易いなどの解析上の利点を持つ小型魚類メダカをモデル動物として用いて、味細胞で受容された味の情報伝達・認識に関わる神経細胞の同定を行った研究である。

第 1 章では、味の情報伝達神経の起点となる味細胞に焦点を当て、メダカの味蕾に発現する分子の相関について述べている。その結果、味覚受容体ファミリーである T1Rs、T2R1 が、エフェクター因子であるホスホリパーゼ C-β2 (PLC-β2) 発現細胞の一部で互いに排他的に発現していること、PLC-β2 が味蕾の約 5 割の細胞で発現していることなど、味の情報伝達神経の起点となる味細胞における味覚関連分子の発現相関を明らかにした。

第 2 章では、旨味・苦味受容細胞を含む細胞集団である PLC-β2 発現細胞に経シナプス性神経トレーサー WGA を発現するトランスジェニック (Tg) メダカを作出し、味覚神経回路を解析している。その結果、マウスにおける過去の解析では達成できなかった味蕾から味覚高次中枢までの味覚神経回路を可視化し、味の受容から認識レベルまでの神経回路の同定に成功したことを述べている。12 日齢、3 か月齢、9 か月齢と成長段階が異なる Tg メダカに対して、免疫組織染色を行い、WGA タンパク質の経時的な輸送解析を検討している。その結果、12 日齢の稚魚では、味蕾で非常に強い WGA の発現が観察され、味神経を含む 3 つの神経節で WGA 陽性細胞が観察され、さらに、味覚 1 次中枢である迷走葉 (XL) を含む延髄の複数の神経核で WGA が観察されたが、延髄以外の脳領域では WGA は観察されなかった。3 か月齢の成魚においては、12 日齢で既に局在が観察された領域に加えて、新たにもう一つの味覚 1 次中枢である顔面葉 (VIII)、峡の味覚 2 次中枢である第 2 味覚核 (NGS)、間脳と終脳の一部の神経核で WGA が観察された。9 か月齢の成魚では、3 か月齢までに局在が観察された神経核に加えて、新たに間脳の味覚 3 次中枢である下葉分散核 (NDLI)・糸球体第 3 味覚核 (pTGN) の細胞に WGA が検出され、哺乳類の味覚高次中枢である大脳皮質味覚野に対応するとされる終脳の背側野内側部の背側部 (dDm) の細胞でも WGA が検出された。このように、旨味・苦味受容細胞を含む味蕾細胞を起点とした味覚高次中枢までの神経回路の可視化に成功している。さらに経時的な解析を行ったことにより味蕾から味神経、延髄を介し、中脳や間脳を経て、高次中枢である終脳へ接続するという味情報の伝達・認識に関わる神経のおおまかな接続様式を示すことにも成功している。

第3章では、第2章で可視化された味覚神経回路において、個々の味の情報伝達神経細胞を同定することを目指し、味刺激に応じて発現する即初期遺伝子群（IEGs）を指標として応答する神経細胞の発現解析について述べている。まず味刺激により応答するメダカのIEGsの探索から行っており、哺乳類の脳で発現が観察されているIEGsのメダカオーソログである33遺伝子を候補遺伝子としてクローニングしている。これらの33遺伝子のうち、呈味物質を含む蛍光標識餌を摂取したメダカの味覚中枢で発現誘導された遺伝子として、*c-fos*、*egr1-2*の2遺伝子を同定することに成功している。この2遺伝子は、摂食時に味覚中枢以外でも発現が観察されたが、味覚以外の神経投射の報告がない味覚2次中枢NGSで発現が観察されたことから、本章における解析により、味覚刺激で発現誘導される神経細胞を検出可能なことが示唆されている。またこの結果は、*c-fos*と*egr1-2*が味覚中枢において味覚刺激により応答するIEGsとして利用できることも示唆するものである。

以上、本研究はメダカをモデル動物とすることにより、旨味・苦味受容細胞を含む味蕾細胞から味覚高次中枢までの神経回路を可視化するとともに、味覚刺激によって応答する遺伝子を同定することができたという点で優れた成果である。また、味の情報伝達・認識に関わる神経細胞を同定し、最終的に味を認識する機構を神経科学の側面から考察する際に重要な知見となる点で、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。