

### 学位論文審査の要旨

受理番号	第 <b>343</b> 号	氏名	柏原 祥頭
審査委員氏名	主査	伊東 博司	
	副査	高田 訓	
		渡邊 弘樹	
			印
			印

論文題名	マウス有郭乳頭における活性酸素合成酵素(Nox)の発現
------	-----------------------------

#### 論文審査の要旨(1,500字程度)

研究目的、研究方法、研究結果、考察・結論を簡潔に記述し、これらに対する審査の経過と結果を簡潔、明瞭に記載してください。

**【研究目的】**  
活性酸素は、生体内の数多くの細胞で産生されており、種々の生理学的機能に関与している。近年この活性酸素を合成する酵素として活性酸素合成酵素(Nox)が判明し、細胞や組織により発現する種類が異なることと、それぞれのNoxの機能の違いに注目が集まっている。  
有郭乳頭は口腔内ガス環境にさらされ、生体防御との関連も深く、さらに味蕾における細胞の分化やシグナル伝達に活性酸素が関与する可能性が考えられる。しかし、現在まで有郭乳頭における活性酸素の産生とNoxの発現や動態について、詳細に検討した報告は認められない。そこで本研究では、マウス有郭乳頭と味蕾における活性酸素合成酵素の形態学的局在を解明する目的で、各Noxの発現と局在を免疫組織化学的に検索した。

**【研究方法】**  
実験には8週齢、雄性C57BL/6NCr1系マウスを用いた。マウスを腹腔内麻酔後、4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定、舌を摘出、通法に従いパラフィンに包埋した。薄切後、Nox抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、光学顕微鏡にて観察した。さらに、味蕾におけるNoxを発現する細胞種を判別するため各Nox抗体と味蕾細胞マーカーの二重免疫染色を行い、蛍光顕微鏡にて観察した。

**【研究結果】**

有郭乳頭の上部上皮において、Nox1, 2, 3, 4およびNoxo1, Noxa1の陽性反応が観察されたが、側方上皮では、Nox2に弱陽性、Nox3は陰性であった。

乳頭上部上皮の基底細胞層、有棘細胞層、顆粒細胞層においてNox1, Noxa1の陽性反応、Noxo1の強陽性反応がみられた。さらにNox3, 4の反応は、基底細胞層で弱陽性、有棘細胞層で陽性、顆粒細胞層で強陽性を示した。また、Nox2の反応は、有棘細胞層の一部から顆粒細胞層に陽性を示した。

味蕾では Nox1の陽性反応は味細胞にみられ、Noxo1の陽性反応は味細胞、支持細胞、基底細胞にみられた。Noxa1, Nox2の陽性反応は、一部の味細胞に限局しており、Nox3の反応は、味細胞と支持細胞に強陽性であった。Nox4の反応は、味蕾を構成する細胞すべてに陽性反応がみられた。

二重免疫染色の結果、Ⅱ型細胞では、Nox1, 3, 4およびNoxo1, Noxa1の発現がみられ、Ⅲ型細胞では、Nox1, 3, 4およびNoxo1, Noxa1に加えて、Ⅱ型細胞ではみられなかったNox2が特異的に発現することが判明した。

**【考察】**

Nox1とNoxa1, Noxo1が有郭乳頭の各部位で発現しており、有郭乳頭において多量の活性酸素が常に産生していることが伺われた。有郭乳頭の上部上皮において、基底細胞層、有棘細胞層、顆粒細胞層にかけて、活性酸素が活発に合成されており、活性酸素は生体防御や角化の過程に関与する可能性が考えられた。

味蕾でも各Noxの発現が観察され、味細胞で発現しているNox1は、味覚情報の感受性を高めるために特異的に発現するものと思われた。加えて、神経線維とシナプス形成をもつ味蕾Ⅲ型細胞では、Ⅱ型細胞より多くの活性酸素が必要と考えられた。

**【結論】**

以上の結果から、マウス有郭乳頭においてNoxが常に発現しており活性酸素が産生されていることが示唆された。特に乳頭の上部上皮では、生体防御や角化の過程に活性酸素が関連する可能性が示された。さらに味蕾において、味覚情報の伝達にNox2を介したシグナル伝達の可能性が考えられた。

本論文に関して審査委員会が平成27年1月20日に開催された。申請者による研究概要の説明の後、質疑応答が行われた。各審査委員より、1) 有郭乳頭と味蕾の構造、2) 味細胞マーカー選択の理由について等の質疑があり、いずれも申請者から適切な回答が得られた。また、委員会において、論文の文章および図の訂正加筆等の指摘がされ、後日提出された論文では適切に修正がなされたを各委員が確認した。

本研究は歯科医学の発展に寄与するものと考えられ、申請者は学位授与に値すると判定した。