

氏名(本籍地) 伊藤 隼(東京都)
 学位記および番号 博士(歯学), 甲 第336号
 学位授与の日付 平成27年3月10日
 学位論文題名 「苦味受容機構とTAS2Rs発現量の関連」
 論文審査委員 (主査) 宗形芳英教授
 (副査) 加藤靖正教授
 山森徹雄教授

論文の内容および審査の要旨

【研究目的】味覚は、甘味、酸味、塩味、苦味、旨味の5基本味で構成され、中でも苦味は不快な味とされる。口腔内は通常唾液が存在し、唾液中の粘液物質が味覚受容体の外部環境を形成していることから、味覚の感受性には唾液の量や質の変化が関連するとされている。近年、Histatin 5が苦味物質キニーネの味覚受容に参与していることが明らかにされている。

一方、多数の苦味受容体TAS2Rsが見いだされており、これらはオリゴマーを形成することでその役割を担うという報告があるが、苦味受容における作用機序の詳細について、Histatin 5との関連については未だ不明な点が多い。

本研究では、苦味感受性に対する唾液中Histatin 5濃度および受容体発現量の関連を検討し、苦味受容機構の解明の一助とすることを目的とした。

【研究方法】被験者は、口腔内が健常で喫煙歴のない、本学歯学部男子学生および男性教職員28人とした。味覚感受性試験、唾液採取、舌表層部の組織採取の際は、条件を一定にするために、2時間前より飲食および激しい運動を禁止し、味覚感受性試験と試料採取は異なる日に行った。

唾液中Histatin 5濃度の測定に使用する試料は耳下腺唾液とした。酸味刺激下で久保木式採唾器を用いて採取し、ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) にて定量した。

苦味感受性試験にはろ紙ディスク法(キニーネ濃度0.001%, 0.02%, 0.1%, 0.5%, 4%)を用い鼓索神経支配領域で測定した。通法に従いキニーネ0.1%以下を正常群、0.5%以上を高閾値群とした。TAS2Rs遺伝子発現量の測定に試料は、舌表層部組織片とし、遠沈管のフランジ部分を用いて葉状乳頭部周辺を奥から手前に数回擦過し採取した。組織片からtotal RNAを抽出し、逆転写反応を行い、特異的TAS2Rsプライマーを用いて、qPCRにてキニーネの受容体遺伝子の発現量を解析した。得られた結果は β -actinにて補正を行った。

得られたデータは各群内でスミルノフの棄却検定を行い、2群間における差の検定には、Mann-Whitney U-testを用いた。有意水準を5%とした。

【研究結果】ろ紙ディスク法による味覚感受性試験では、認知濃度が0.02%となった被験者が10名と最も多く、全体の43.5%であった。次いで0.001%が9名であった。認知濃度0.001%~0.1%の被験者を正常群(23人, 82.1%)とし、0.5%または4.0%の被験者を高閾値群(5人, 17.9%)とした。

唾液中Histatin 5濃度の人数分布は、100~200ng/mlで11人と最も多く、平均値は227.4 \pm 126.0ng/mlであった。Histatin 5濃度は、正常群に比較して高閾値群で有意に低かった。

β -actin mRNAに対する受容体遺伝子の相対発現量の平均値は、TAS2R7が $4.7 \times 10^{-2} \pm 6.9 \times 10^{-2}$ と最も多く、最も少ないTAS2R40は $0.24 \times 10^{-2} \pm 0.39 \times 10^{-2}$ であった。また、各受容体遺伝子発現について正常群、高閾値群間で検定を行ったところ、TAS2R7では正常群に比較して高閾値群の発現量が有意に少なかった。他の受容体遺伝子では群間に有意な差は認められなかった。

【考察】苦味感受性の高閾値群で唾液中Histatin 5濃度が有意に少なかったことから、Histatin 5はキニーネの受容体への結合を促進すると考えられた。キニーネの受容体とされているTAS2Rsに関して、キニーネとの結合力は差が無いことが知られている。本研究において苦味閾値高閾値群では、TAS2R7遺伝子発現量が有意に減少していたことは、TAS2R7は苦味受容の中心的な役割をしている可能性が示唆された。また*in vitro*の実験で、TAS2Rsがヘテロマーを形成する際の親和性について検証を行ったところ、いくつかのTAS2R間で高親和性分子が存在するという報告があり、TAS2R7はTAS2R4を除くキニーネ受容体TAS2Rsと結合することが証明されている。したがって、本研究ではキニーネによる苦味受容にTAS2R7が中心的な役割を担っていることが示されたが、それ以外のTAS2Rsもヘテロマーを形成するなどして関与している可能性がある。

【結論】キニーネによる苦味受容においてTAS2R7が重要な働きを担っており、またHistatin 5はキニーネの受容体への結合を促進すると考えられた。

本論文に対する審査委員会は、平成27年1月14日に行われた。まず申請者により研究内容に関する説明があり、論文内容の検討と質疑応答が行われた。質疑の主たるものは、1)実験条件の設定、2)実験条件に対する考察、3)引用文献の内容と本研究との関連についてであり、いずれに対しても明確な回答が得られた。また審査委員より1)方法、結果、考察の一部、2)図表の一部について修正箇所が指摘され、後日、適切に修正されたことを確認した。

以上のことから、審査委員会は申請論文が歯科医学の発展に寄与するものであることを認め、申請者は学位を授与するに値すると判断した。

掲載雑誌

奥羽大学歯学誌 第42巻、4号 125-132 2015