

学 位 論 文 題 名

Immunohistochemical demonstration of nerve terminals
in the whole hard palate of rats by use of an antiserum
against protein gene product 9.5 (PGP 9.5)

Protein gene product 9.5 (PGP 9.5)抗体を用いた

ラット硬口蓋の知覚神経終末に関する免疫組織化学的研究

学位論文内容の要旨

食品のおいしさは、①味蕾における味覚受容（甘味、塩味、酸味、苦味、うま味）、②口腔及び周辺組織での機械受容（舌ざわり、歯ごたえ、喉ごしなど）、化学受容、ならびに温度感覚、③味覚以外の感覚（嗅覚、視覚、聴覚など）などが総合されて認識される。しかし、「おいしさ」についてのこれまでの形態学的、生理学的研究は、主に舌における味覚を対象としたものであり、しかもそのほとんどが味蕾における知覚受容機構に関するものであった。

一方、硬口蓋は口腔内に占める面積が舌と同等であり、舌とともに「おいしさ」の認識に重要な役割を担っていると考えられている。また、臨床において義歯装着により「食べ物がおいしくなくなった」という訴えに遭遇することも少なくない。実際、これまでの神経生理学的な研究により、硬口蓋は触刺激や圧刺激に敏感な部位であることが示されており、形態学的な研究からも硬口蓋には豊富な神経分布が認められることが明らかにされている。しかし、硬口蓋全体にわたる神経分布を詳細に検索した研究は、現在に至るも全くなされてない。そこで本研究では、硬口蓋における知覚受容機構を解明することを目的として、ラット硬口蓋全体における神経分布とその終末形態を Protein gene product 9.5 (PGP 9.5)抗体を用いた免疫組織化学的手法により観察した。PGP 9.5 は近年、脳の可溶性蛋白の2～3%を占めるほど大量に存在する脳特異蛋白であり、全ての神経細胞の細胞質中に含まれる蛋白であることが明らかとなった神経特異蛋白である。そのため、PGP 9.5 に対する特異抗体を用いて免疫組織化学的に検索することにより、全てのタイプの神経を検出することが可能である。

実験には体重 200-300g の Wistar 系成ラットを用いた。4%パラホルムアルデヒドで灌流固定した後、軟口蓋との境界部を含めた硬口蓋全体の粘膜を剥離した。剥離した粘膜を3方向（矢状断、前頭断、水平断）から連続的に凍結切片を作成し、神経特異蛋白である PGP 9.5 抗体を用いて免疫染色を施した。また、一部は、灌流固定したラットの上顎全体を Plank-Rychlo 液にて脱灰後、凍結切片を作製し、ヘマトキシ

リン-エオジン染色を施した。

電子顕微鏡用には、上記と同様の方法で免疫染色を施した後、1%OsO₄で後固定をし、脱水、樹脂包埋後、超薄切片を作製し、電子顕微鏡で観察した。

ラット硬口蓋には、種々の突起物があり、前方から順に切歯の後方を縦方向に走る atrial ridges, 切歯乳頭, 発達した口蓋皺襞である antemolar rugae, 退化した口蓋皺襞である intermolar rugae, 軟口蓋に近く糸状乳頭様の突起が密集している領域である postrugal filifolm papillae, 軟口蓋との境界部である transverse terminal ridge, が区別できる。また、ラット硬口蓋はこれらの突起物を目印に、切歯と切歯乳頭の間の atrial region, 切歯乳頭と臼歯の間の antemolar region, 臼歯を含む intermolar region, 軟口蓋との境界までの postrugal region の4つの領域に分けられる。

硬口蓋には舌粘膜よりはるかに密に PGP 9.5 陽性神経が分布し、それらは①上皮内の自由神経終末, ②上皮内の特殊神経終末, ③上皮下で特殊な配列を示す神経終末, ④味蕾に付随する神経に分けられ、それぞれの神経終末の分布には、部位による違いが認められた。

①の上皮内の自由神経終末は切歯と切歯乳頭の間 (atrial region), 切歯乳頭や口蓋皺襞 (antemolar and intermolar rugae) の突出部, 硬口蓋と軟口蓋の境界部 (postrugal filifolm papillae) に多くみられた。特に後方の口蓋皺襞 (intermolar rugae) や硬口蓋と軟口蓋の境界部 (postrugal filifolm papillae) では、神経が上皮の表層にまで入り込み、中には角質層の中にまで侵入する神経線維も観察された。自由神経終末は、一般的に「痛み」を感じる神経として知られているが、その機能についてはよくわかっておらず、機能的・温熱的・化学的な刺激すべてに応じるものと考えられている。したがって、食塊が直に当たる口蓋粘膜の突出部で観察された上皮内の自由神経終末の多くは、機械的あるいは温熱的な侵害受容器として働いていることが考えられる。また、神経線維が粘膜表層にまで達している後方の皺襞 (intermolar rugae) や硬口蓋と軟口蓋の境界部 (postrugal filifolm papillae) では、これらの神経終末の一部は化学受容の役割を担っている可能性も考えられる。

②の上皮内の特殊神経終末は、切歯の直後と切歯乳頭の直前、皺襞 (antemolar and intermolar rugae) と皺襞の間にみられた。形態学的には、特殊な神経終末は機械受容器に属するものと考えられていることから、これらの神経終末も機械受容器としての役割を担っていると考えられる。

③の上皮下の特殊な神経終末は、atrial folds の部位に局限して観察され、固有層乳頭に沿って特徴的な配列を示していた。切歯と切歯乳頭の間の atrial region には、中央に atrial ridges と呼ばれる数本のひだが並び、このひだを左右から atrial folds が包み込むような形態をしている。このような形態的特徴から考えると、この神経終末は、atrial folds の動きを感知するものであると思われる。

④の味蕾に付随する神経終末は、味蕾の中およびその周囲に分布していた。ラット硬口蓋には味蕾が存在し、切歯乳頭内の切歯管開口部、硬口蓋と軟口蓋の境界部に列

をなして観察された (Geschmacksstreifen). また, 一部のラットでは口蓋皺襞 (antemolar rugae) の頂上部でも少数の味蕾が認められた. なお, 味蕾の内部には紡錘形の細胞が PGP 9.5 に陽性反応を示したが, この細胞は味を感じる TypeⅢ細胞であると思われる.

以上のことから, 硬口蓋前方部には, 機械受容器が多く存在し, 食塊の大きさ・硬さなどの物性や舌の位置を認識し, 食塊の輸送に関わるものと考えられる. また, 硬口蓋の後方部では, 臼歯によって噛み砕かれた食塊から出てくる化学的情報が, 神経によって認識されるものと思われる.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 崎 貴 生

副 査 教 授 吉 田 重 光

副 査 教 授 赤 池 忠

学 位 論 文 題 名

Immunohistochemical demonstration of nerve terminals
in the whole hard palate of rats by use of an antiserum
against protein gene product 9.5 (PGP 9.5)

Protein gene product 9.5 (PGP 9.5)抗体を用いた
ラット硬口蓋の知覚神経終末に関する免疫組織化学的研究

審査は吉田、赤池および川崎審査委員全員が出席のもとに、まず論文申請者に対して申請論文の内容の要旨を説明させ、論文の内容について審査委員の口頭試問を行った。以下に申請論文の要旨と審査の内容を述べる。

論文申請者は現在「おいしさ」の認識に関する口蓋の役割の解明を目的として実験を行っているところであるが、本論文においてはラット硬口蓋の神経終末の分布について報告したものである。「おいしさ」についてのこれまでの形態学的、生理学的研究は、主に舌における味覚を対象としたものであり、しかもそのほとんどが味蕾における知覚受容機構に関するものであった。一方、硬口蓋は口腔内に占める面積が舌と同等であり、舌とともに「おいしさ」の認識に重要な役割を担っていると考えられている。また、臨床において義歯装着により「食べ物がおいしくなくなった」という訴えに遭遇することも少なくない。実際、これまでの神経生理学的な研究により、硬口蓋は触刺激や圧刺激に敏感な部位であることが示されており、形態学的な研究からも硬口蓋には豊富な神経分布が認められることが明らかにされている。しかし、硬口蓋全体にわたる神経分布を詳細に検索した研究は、現在に至るも全くなされてない。そこで本研究では、硬口蓋における知覚受容機構を解明することを目的として、ラット硬口蓋全体における神経分布とその終末形態を Protein gene product 9.5 (PGP 9.5)抗体を用いた免疫組織化学的手法により観察した。

【実験方法および材料】

体重 200-300g の Wistar 系成ラットを 10%ホルマリンで灌流固定し、硬口蓋ならびに軟口蓋との境界部の粘膜を剥離した。剥離した粘膜を3方向(矢状断、前頭断、水平断)から連続的に厚さ 16 μ m の凍結切片を作成し、神経に特異的な protein gene product 9.5 (PGP 9.5) 抗体を用いて免疫染色した。また、一部は厚さ 110nm の超薄切片を作製し、電子顕微鏡で観察した。

【結果および考察】

硬口蓋には舌粘膜よりはるかに密に神経が分布し、それらは①上皮内の自由神経終末、②上皮内の特殊神経終末、③上皮下で特殊な配列を示す神経終末、④味蕾に付随する神経に分けられ、それぞれの神経終末の分布は、部位により違いが認められた。①は切歯と切歯乳頭の間 (atrial region)、切歯乳頭やヒダ (antemolar and intemolar rugae)の突出部、硬口蓋と軟口蓋の境界部に多くみられ、角質層の中にまで侵入する神経も少なくなかった。②は切歯の直後と切歯乳頭の直前、ヒダとヒダの間、③は切歯乳頭の前方に限局してみられた。④は切歯乳頭の切歯管開口部、硬口蓋と軟口蓋の境界部に列をなして出現した (Geschmacksstreifen)。①の上皮内自由神経終末は、食塊が直に当たる部位に多く、粘膜表層まで到達することから、侵害受容器として働いていると考えられる。また、ヒトの硬口蓋には味蕾は存在しないが、実験的口蓋床装着により酸味と苦味の閾値が上がるという報告があることから、これらの上皮内神経終末が味覚受容の一端を担っている可能性が考えられる。②と③の特殊な配列を示す神経終末は、形態学的特徴から機械受容器に属し、食品のテクスチャーの認識に関わるものと考えられた。

現在、論文申請者はヒト口蓋における神経終末の分布に関して実験を進めている所であること、本研究は硬口蓋の特性を検索し、歯科領域における口蓋の特性に関して、さらなる発展が期待される分野でもある。

また、今後の展望に関してもしっかりとした研究計画をもっており、将来性の点においても高く評価されるものであった。よって、学位申請者は博士 (歯学) の学位授与にふさわしいものと認めた。