

氏名	美甘 真
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第5130号
学位授与の日付	平成27年3月25日
学位授与の要件	医歯薬学総合学研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	渋味溶液の舌刺激によるラット舌神経と鼓索神経の応答
論文審査委員	杉本 朋貞 教授 松尾 龍二 教授 宮脇 卓也 教授

学位論文内容の要旨

【緒言】

口腔内に摂取された食物は様々な感覚を引き起こすが、特に渋味は果物や野菜、お茶やワインといったさまざまな飲食物で生じる感覚である。この渋味の感覚は、従来より味受容器と口腔の体性感覚受容器を刺激するという考えがある。渋味の体性感覚は、唾液中に含まれる高プロリンタンパクなどの唾液タンパクとポリフェノールが架橋結合し唾液の潤滑性が失われてしまうことで、粘膜上皮での摩擦が増え、口腔粘膜の乾燥や収斂といった体性感覚に近い感覚として知覚されると考えられている。しかし、電気生理学実験において鼓索神経や舌咽神経から神経インパルスの記録がされているが、体性感覚神経である舌神経の応答が確認された報告はない。そこで、舌への渋味刺激を行い舌神経と鼓索神経からの応答記録により渋味の求心性情報について調べることを本研究の目的とした。

【材料と方法】

本研究は岡山大学動物実験施設倫理委員会 (OKU-2012511) の承認を得て行った。実験には、体重約 270~350g の Wistar 系雄性ラットを使用し、ウレタン (1.0g/kg, i.p.) による麻酔を行った。渋味刺激としてタンニン酸とアンモニウムミョウバン (0.3mM, 1mM, 3mM, 10mM, 30mM) を用いた。また、対照刺激として冷水、100mM NaCl (以下, NaCl) を用い、冷水は約 4℃, その他の溶液は室温 (約 25℃) とし、機械的刺激として無鉤ピンセットによる触刺激を行った。神経剖出は、まずラットの気管にカニューレを挿入し呼吸を確保し、固定台へ側臥位に固定して左側咬筋を下顎角付着部より剥離し、内側翼突筋および周囲組織より下顎枝を切除、舌神経および鼓索神経を手術用実態顕微鏡下で露出した。それぞれの神経は頭蓋底に入る部分で切断し、その末梢側でワイヤー電極により神経応答の記録を行った。舌神経は神経束をさらに細くしピンセットによる舌刺激で、鼓索神経は NaCl で、応答が認められるか確認を行い神経応答の記録を行った。記録手順は、始めに 10 秒間溶液の刺激を行い、刺激終了から 20 秒は何も刺激を行わず、その後蒸留水を 10 秒間滴下し舌の洗浄を行った。洗浄後は次の刺激まで最低 1 分以上時間を空け、その間も蒸留水による洗浄を行った。記録解析は積分応答として変換・記録し、刺激溶液滴下中 10 秒間の応答積分値を算出した。冷水による応答積分値を 100 とし、それぞれの刺激溶液による応答面積との相対値を求め比較をした。また、相対比より対数近似直線を算出した。

【結果と考察】

タンニン酸とアンモニウムミョウバン舌刺激により、舌神経、鼓索神経ともに応答が認められた。ま

た、低濃度では応答が小さいが、濃度が高くなるにつれて応答も大きくなっており、濃度依存性であることが確認された。このことから、渋味は体性感覚と味覚の複合感覚であると考えられた。

本研究では蒸留水で舌の洗浄を行っており、唾液タンパクが舌に残存しているとは考えにくい状態であったが、渋味の応答が舌神経で確認された。唾液タンパクの成分や唾液量が渋味の知覚に関連がなかった報告がある一方で、口腔乾燥状態では渋味よりも口腔湿潤感を強く覚えた報告もある。このことから、唾液タンパクの有無により応答が変化することが推測され、唾液タンパク存在下で電気生理学的に応答を確認することは有用であると考えられた。

舌神経、鼓索神経ともに渋味溶液による刺激で応答が確認された神経では冷水でも応答が確認できた。しかし、細くした舌神経の中に冷水刺激で応答しなかった神経が観察され、この神経では両方の渋味溶液刺激に応答が認められなかった（22本中4本：約18.2%）。このことから、比較的細い神経であるC線維の末端である自由神経終末上に存在する、侵害受容器のポリモーダル受容器が関与している可能性が推測された。その受容器上には、約17°C以下の侵害性冷刺激で活性化する transient receptor potential channel ankyrin-1 が存在し、この受容体はポリフェノールによる活性化の報告もあるため、渋味の舌神経応答に関与している可能性が推測された。

タンニン酸、アンモニウムミョウバン刺激の相対応答値からも、その応答は濃度依存性であることが確認された。舌神経は、両物質の近似直線が近似している（タンニン酸：18.209、アンモニウムミョウバン：13.14）のに対し、鼓索神経ではタンニン酸の近似直線の傾きがアンモニウムミョウバンのそれと比較し大きかった（タンニン酸：31.588、アンモニウムミョウバン：16.518）。また、閾値は舌神経タンニン酸で約0.15mM、舌神経アンモニウムミョウバンで約0.12mM、鼓索神経タンニン酸で約0.13mM、鼓索神経アンモニウムミョウバンで約0.04mMであり、鼓索神経アンモニウムミョウバンの閾値が最も低かった。渋味溶液の鼓索神経応答で感受性、閾値の違いが認められたことから、渋味の種類・濃度による感覚の違いは体性感覚より味覚の影響が強いと推測された。

【結論】

以上より、渋味は体性感覚と味覚の複合感覚であり、その感覚の濃度・物質による違いは味覚の影響が大きく、そして渋味による体性感覚は冷刺激に応答を示す神経が関与しており、その神経終末に存在するポリモーダル受容器が渋味の受容に関与している、と考えられる。

論文審査結果の要旨

本研究は、従来より味受容器と体性感覚受容器を刺激すると言われている渋味について、ラットの舌に渋味刺激を行い舌神経と鼓索神経からの応答記録により渋味の求心性情報について検討したものである。

実験ではWistar系雄性ラットに腹腔内麻酔下で、舌神経と鼓索神経を剖出し、鼓索神経（全神経束）と舌神経（細い神経束に分離）から求心性神経活動を記録している。舌刺激は渋味溶液（タンニン酸とアンモニウムミョウバン）による刺激、対照刺激としては冷水（4℃）、100ml NaCl、ピンセットによる機械的刺激を行なっている。記録の解析は、渋味刺激中の応答積分値を対照刺激（冷水）の応答積分値と比較・分析している。

その結果、本研究では以下の結果を得ている。

1) 対照刺激に関して、舌神経では機械的刺激、鼓索神経ではNaClの刺激により応答が認められた。冷水刺激の応答は両神経で認められた。

2) 鼓索神経では全ての記録例で、渋味刺激に応答が認められた。舌神経では機械的刺激と冷刺激に応答する神経束から渋味応答が記録された。冷水刺激に応答しない舌神経束では、渋味刺激に対する応答は認められなかった。

3) 渋味刺激に関して、舌神経と鼓索神経はともに渋味刺激開始と同時に応答し、刺激が持続している間は応答が認められた。タンニン酸およびアンモニウムミョウバン刺激の応答は濃度依存性であることが確認された。

4) 濃度 - 応答直線の解析により、舌神経では2つの渋味物質の近似直線が類似していることが分かった。一方、鼓索神経ではタンニン酸の近似直線の傾きがアンモニウムミョウバンのそれと比較し大きく、タンニン酸に対する応答性が高いことが分かった。閾値は、アンモニウムミョウバンに対する鼓索神経の応答が最も低かった。

これらの知見は、渋味は体性感覚と味覚の複合感覚であること、渋味物質の違いは鼓索神経により大きく出現すること、また舌神経の渋味受容器はポリモーダル受容器であることを示している。これらの知見は、渋味の感覚に関して新たな見解を示す重要な研究成果であると考えられる。

以上の審査結果より、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。