

哺乳類フェロモンによる生理機能および行動の制御法開発

Control of physiological function and behavior by mammalian pheromones

森 裕司 (MORI YUJI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



研究の概要

動物におけるフェロモンの作用は強力で、受け取った個体の脳機能に大きな影響を与え行動や生理状態を変える。しかし哺乳類のフェロモンについては未だに多くの謎が残されている。

本研究では、反芻類の雄効果フェロモンと齧歯類の警報フェロモンに焦点を当て、リガンド分子の単離精製と化学構造の決定、そしてフェロモン受容体と神経回路の解明を目指している。

研究分野：生物系・農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用動物科学

キーワード：機能性物質

1. 研究開始当初の背景

雄効果とは小型の反芻動物（ヤギやヒツジ）でみられる強力なフェロモン作用で、非繁殖期の雌は、雄が放出するわずかなフェロモンを嗅いだけで排卵する。フェロモンの作用機序が、視床下部の生殖内分泌中枢であることは知られていたものの、リガンド分子は不明であった。一方、警報フェロモンは不安・恐怖といった情動反応を引き起こす物質であり、様々な動物種で存在は知られていたが、同様にリガンド分子は全く不明であった。哺乳類では、リリーサーフェロモン（行動を誘発）についての報告は散見されるものの、本研究で同定に取り組むプライマーフェロモン（神経内分泌反応を誘発）の化学構造については決定的な研究報告は皆無であった。

2. 研究の目的

本研究では、まず雄効果フェロモンと警報フェロモンそれぞれのリガンド分子を単離精製し、化学構造の決定を目指した。さらにリガンド分子と特異的に結合する受容体を同定し、フェロモン感受器である鋤鼻器から標的的部位である視床下部辺縁系の弓状核（雄効果）および扁桃核（警報反応）を結ぶ神経回路の解明を目指している。

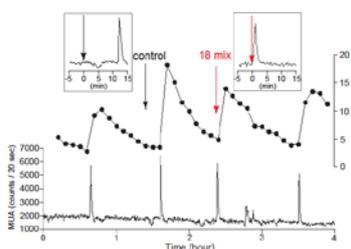
3. 研究の方法

いずれのフェロモンも揮発性の低分子化合物であることが想定されたので、候補分子の分析は GCMS により行い、新奇化合物に

ついては全て有機合成することで入手し、フェロモン活性の評価を単品もしくは混合物として行った。バイオアッセイは、雄効果フェロモンについては視床下部 GnRH パルスジェネレータの活動を多ニューロン発射活動 (MUA) としてリアルタイム観察することで、性腺刺激効果を評価した。また警報フェロモンについては聴覚性驚愕反射 (ASR) を利用して不安増大効果を評価した。フェロモン受容体の同定は単離鋤鼻神経細胞のカルシウムイメージングと single cell RT-PCR 等を用いて行っている。

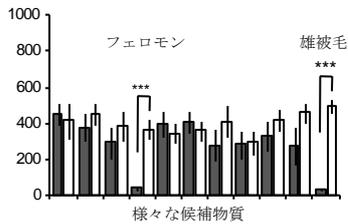
4. これまでの成果

雄効果フェロモンについては、まずフェロモン産生部位である雄ヤギの頭部皮膚から放出される揮発性分子を捕集した。これを GC で繰り返し分析・分画してフェロモン活性を有する画分を回収し、そこに存在する化学物質を同定した。新奇の分子はすべて合成し 18 成分からなる人工カクテルを調合したところ、フェロモン活性が確認された。合成フェロモンを嗅覚提示すると（下図右の矢印）



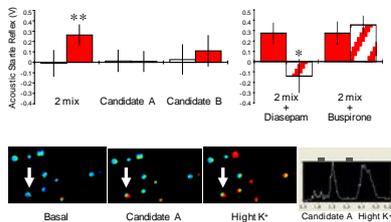
直ちに GnRH 神経分泌 (MUA ボレー：右のインセット) と LH パルス分泌が誘導され

た。次にそれぞれの成分の活性を確認しながら候補物質を絞り込んだ結果、ある新奇物質（未公表）が単独で強力なフェロモン活性を示すことを見出した。下記のグラフは混合フェロモン



を行ったもので、陽性対照である右端の雄被毛のような強いフェロモン作用がみられたのは一つの物質だけであった。

一方、警報フェロモンに関しては、フェロモン産生部位である雄ラットの肛門周囲部から放出される揮発性分子を多量に捕集した。これを原料に分画操作を繰り返して活性



成分を回収し、また超微量な揮発性成分を特殊な方法で精製同定し、数種の候補分子を合成した。そのなかから天然の警報フェロモンと同様な ASR を惹起する成分を見出した（上図の上段）。またこの物質を単離した鋤鼻感覚細胞に添加するとその神経活動を刺激しうることも明らかとなった（上図の下段）。これらの物質についてはいずれも現時点では未発表であり、投稿の準備を進めているところである。

5. 今後の計画

平成24年度中に、フェロモンの単離精製と構造解明に関するデータを全て公表する。

雄効果フェロモンも警報フェロモンも、標的となる脳の神経核が明らかにされている特異なフェロモン現象であり、こうしたフェロモンの発見は哺乳類では初めての報告となる予定である。

今後は、最大の課題であったリガンド同定に次ぐ本研究の重要な課題であるフェロモン受容体の探索研究を本格化させる。すでに一部の実験は開始しており、雄効果フェロモンについては、まず我々の同定した反芻家畜に共通な V1R 受容体のどのファミリーがリガンドと反応するかを決めた後、フェロモン受容体を絞り込む。また警報フェロモンについては単離した鋤鼻神経細胞にカルシウムイメージングと single cell RT-PCR を用いて受容体遺伝子を同定する。いずれも技術的な検討など準備は進んでおり、研究プロジェクトの时限内には目標に到達できると予想している。

6. これまでの発表論文等

- Kobayashi T, Kiyokawa Y, Takeuchi Y, Mori Y. (2011) Pretreatment with CP-154526 blocks the modifying effects of alarm pheromone on components of sexual behavior in male, but not in female, rats. *Chem Senses* 36: 623-32.
- Kodama Y, Kiyokawa Y, Takeuchi Y, Mori Y. (2011) Twelve hours is sufficient for social buffering of conditioned hyperthermia. *Physiol Behav* 102: 188-92.
- Matsuyama S, Ohkura S, Mogi K, Wakabayashi Y, Mori Y, Tsukamura H, Maeda K, Ichikawa M, Okamura H. (2011) Morphological evidence for direct interaction between kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone neurons at the median eminence of the male goat: an immunoelectron microscopic study. *Neuroendocrinology* 94: 323-32.
- Murata K, Wakabayashi Y, Sakamoto K, Tanaka T, Takeuchi Y, Mori Y, Okamura H. (2011) Effects of brief exposure of male pheromone on multiple-unit activity at close proximity to kisspeptin neurons in the goat arcuate nucleus. *J Reprod Dev* 57: 197-202.
- Inagaki H, Kiyokawa Y, Takeuchi Y, Mori Y. (2010) The alarm pheromone in male rats as a unique anxiety model: Psychopharmacological evidence using anxiolytics. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 94: 575-579.
- Okamura H, Murata K, Sakamoto K, Wakabayashi Y, Ohkura S, Takeuchi Y, Mori Y. (2010) Male effect pheromone tickles the gonadotrophin-releasing hormone pulse generator. *J Neuroendocrinol* 22: 825-32.
- Wakabayashi Y, Nakada T, Murata K, Ohkura S, Mogi K, Navarro VM, Clifton DK, Mori Y, Tsukamura H, Maeda K, Steiner RA, Okamura H. (2010) Neurokinin B and dynorphin A in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *J Neurosci* 30: 3124-32.
- Inagaki H, Nakamura K, Kiyokawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. (2009) The volatility of an alarm pheromone in male rats. *Physiol Behav* 96: 749-52.
- Kiyokawa Y, Takeuchi Y, Nishihara M, Mori Y. (2009) Main olfactory system mediates social buffering of conditioned fear responses in male rats. *Eur J Neurosci* 29: 777-85.
- Murata K, Wakabayashi Y, Kitago M, Ohara H, Watanabe H, Tamogami S, Warita Y, Yamagishi K, Ichikawa M, Takeuchi Y, Okamura H, Mori Y. (2009) Modulation of GnRH pulse generator activity by the pheromone in small ruminants. *J Neuroendocrinol* 21: 346-350.

ホームページ等

<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/koudou/j-home.htm>