

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔事後評価用〕

平成15年度採択分
平成21年3月31日現在

研究課題名（和文） フェロモン系を介する視床下部・辺縁系機能の制御

研究課題名（英文） Pheromonal control of the hypothalamo- limbic function

研究代表者 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：哺乳類の脳機能に強力な作用をもたらす生理機能や行動に大きな変化をもたらすプライマー・フェロモンの存在が知られていた。しかしその実体は不明であった。本研究は反芻動物の“雄効果”というフェロモン現象に着目し、そのリガンド分子を単離・構造決定することでフェロモンの謎を解き明かそうと計画された。

研究分野： 生物系農学分野

科研費の分科・細目： 畜産学・獣医学分科・応用動物科学

キーワード： 哺乳類, プライマーフェロモン, 構造決定, 化学合成, 視床下部・辺縁系, 神経行動学, フェロモン受容体, フェロモン産生機構

1. 研究開始当初の背景

(1) 哺乳類プライマーフェロモンの存在を示唆した研究は数多くあるがリガンド分子本体は同定されておらず、哺乳類フェロモンに関する基礎的・応用的研究の進展にとって隘路となっていた。その原因は生物検定系の不備にあった。

(2) 反芻家畜の“雄効果”フェロモンは視床下部GnRHニューロン神経活動の調節機構がその標的である。申請者らは視床下部神経活動を指標とする精度と特異性に優れた雄効果フェロモンの生物検定系を確立することに成功していた。

2. 研究の目的

本研究では雄効果をモデルとして、(1) 哺乳類プライマーフェロモン分子の単離精製・構造決定と合成、(2) フェロモンの産生・分泌機構の解明、

(3) 鋤鼻・嗅覚系におけるフェロモン受容機構の解明、(4) フェロモンによる視床下部・辺縁系神経活動修飾機構の解明、そしてこれらをもとに

(5) フェロモンの産生から作用にいたる化学的情報通信システム全容の理解と、フェロモンを用いた動物機能制御法開発の基盤となる新たな研究パラダイムの創成を目指した。

3. 研究の方法

研究チームは、(1) フェロモン分子の単離精製と生物検定を担当する班、(2) リガンドの構造解析と合成を担当する班、(3) フェロモン受容機構を担当する班、(4) フェロモン情報伝達に関わる脳内神経回路を担当する班、(4) フェロモン産生分泌機構を担当する班、および(5) 行動解析を担当する班から構成され、各班が有機的に連携し相互に緊密な情報交換を行いながら哺乳類におけるフェロモンを介したケミカルコミュニケーションの全容を解明すべく本研究に取り組んだ。

4. 研究の主な成果

(1) GnRHパルスジェネレーターと新奇神経ペプチドであるキスペプチン(kisspeptin)との関連が見出されたことから、ヤギ視床下部におけるキスペプチン神経細胞集団の Multiple Unit Activity (MUA) を記録解析したところバイオアッセイの精度が格段に上昇し(図1)、このことが最終的にフェロモン分子の同定を可能にした。さらにGnRHパルスを駆動する神経機構としてダイノルフィン(dynorphin)とニューロキニンB(neurokinin B)がキスペプチンニューロンの活動を相互干渉的に制御している可能性が示され、超短時間(1秒)のフェロモン呈示により数十秒後にGnRHパルスを誘起しうることから、生殖内分泌分野の重要課題であるGnRHパルスジェネレーターの神経機構の実体解明にこのフェロモンモデルが非常に有用であることが示された。

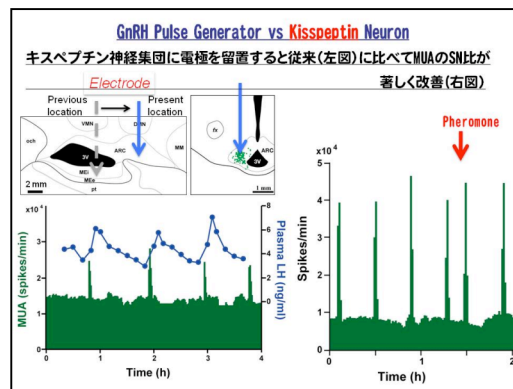


図1. キスペプチン神経 MUA によるバイオアッセイ

(2) 一方、ヤギとヒツジのフェロモン受容体V1R遺伝子をそれぞれ20数種類同定して反芻家畜の間で比較したところ、ヒツジとヤギの間ではアミノ酸相同性が95%を超える高い種類類似

性が認められ、推定三次元構造の比較でもリガンド結合部位周辺の構造はほとんど一致しているなど異なる種が共通のフェロモン分子を利用している可能性が示された (図2)。

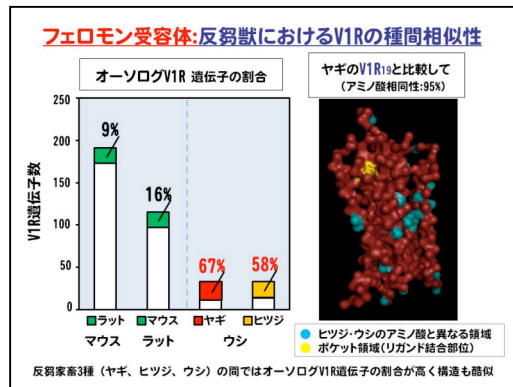


図2.フェロモン受容体 V1R の種間類似性

この仮説の妥当性は生理実験でも支持された。すなわち雄ヤギのフェロモンが雌ヒツジに、逆に雄ヒツジのフェロモンが雌ヤギにも効果を持つことが示され種間でのクロスオーバーが確認された。家畜としてのヒツジの重要性はより高いことから、ヤギで同定された人工フェロモンがヒツジにも有効であるとすればその応用的意義はさらに高まることになる。

(3) フェロモン分子単離のため、ヘッドスペース法を用いて生体から放出される揮発成分を直接カラムに回収し複数の超微量候補分子を同定するための分析方法を開発した。その結果、フェロモン活性画分に存在する16のピークを同定し構造決定した。この16成分混合物からなる人工フェロモンについて、バイオアッセイを行ったところ雄効果フェロモンの活性を有することが確認された(図3)。

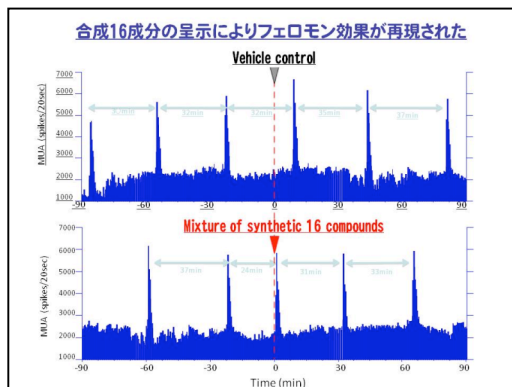


図3.合成フェロモンで確認された活性

以上のように反芻動物の雄効果フェロモンについて単離・構造決定し合成した化合物のフェロモン活性が確認され、フェロモン受容と産生機構に関する理解が深まるなど、本研究で掲げた当初の目標を達成することができた。

(なお情動系に作用し不安レベルを上昇させる警報フェロモンについても候補分子を絞り込む段階に到達したが、紙面の都合で説明は割愛した。)

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

(1) プライマーフェロモンは強力な向中枢作用を持つことから多方面の研究者から興味を持たれている。本研究では、雄効果という強力な性腺刺激フェロモンをモデルとして、世界で初めて哺乳類プライマーフェロモンのリガンド分子を単離精製し構造決定することに成功した。

(2) 生殖の司令塔である視床下部 GnRH パルスジェネレーターの神経機構は重要な課題であるが、雄効果フェロモンを用いた研究モデルは、その解明のための重要なツールとなりうることを示された。

(3) 国際的に注目されている Clean・Green・Ethical (安全性・環境・動物福祉に配慮) な畜産の振興において雄効果フェロモンの応用が期待されている。

6. 主な発表論文

- (研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、連携研究者は一重下線)
- Inagaki H., Nakamura K., Kiyokawa Y., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y.. The volatility of an alarm pheromone in male rats. *Physiol Behav* 96: 749-752. (2009)
- Kiyokawa Y., Takeuchi Y., Nishihara M., Mori Y. Main olfactory system mediates social buffering of conditioned fear responses in male rats. *Eur J Neurosci* 29: 777-785. (2009)
- Murata K., Wakabayashi Y., Kitago M., Ohara H., Watanabe H., Tamogami S., Warita Y., Yamagishi K., Ichikawa M., Takeuchi Y., Okamura H., Mori Y. Modulation of GnRH pulse generator activity by the pheromone in small ruminants. *J Neuroendocrinol* 21: 346-350. (2009)
- Inagaki H., Kiyokawa Y., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y. Enhancement of the acoustic startle reflex by an alarm pheromone in male rats. *Physiol Behav* 93: 606-611. (2008)
- Kitago M., Momozawa Y., Masuda K., Wakabayashi Y., Date-Ito A., Hagino-Yamagishi K., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y. Localization of the candidate genes ELOVL5 and SCD1 for 'male effect' pheromone synthesis in goats (*Capra hircus*). *J Reprod Dev* 53: 1329-1333. (2007)
- Kiyokawa Y., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y. Removal of the vomeronasal organ blocks the stress-induced hyperthermia response to alarm pheromone in male rats. *Chem Senses* 32: 57-64. (2007)
- Mogi K., Sakurai K., Ichimaru T., Ohkura S., Mori Y., Okamura H. Structure and chemical organization of the accessory olfactory bulb in the goat. *Anat Rec* 290: 301-310. (2007)
- Momozawa Y., Takeuchi Y., Kitago M., Masuda K., Kakuma Y., Hashizume C., Ichimaru T., Mogi K., Okamura H., Yonezawa T., Kikusui T., Mori Y. Gene expression profiles linked to the hormonal induction of male-effect pheromone synthesis in goats (*Capra hircus*). *Biol Reprod* 77: 102-107. (2007)
- Okamura H., Ohkura S. Neuroendocrine control of reproductive function in ruminants. *Anim Sci J* 78: 105-111. (2007)
- Wakabayashi Y., Ohkura S., Okamura H., Mori Y., Ichikawa M. Expression of a vomeronasal receptor gene (V1r) and G protein alpha subunits in goat, *Capra hircus*, olfactory receptor neurons. *J Comp Neurol* 503: 371-380. (2007)
- Kiyokawa Y., Shimozuru M., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y. Alarm pheromone increases defensive and risk assessment behaviors in male rats. *Physiol Behav* 87: 383-387. (2006)
- 森裕司**「感じる匂い」と「動かし匂い」. *Hasegawa Letter* 21: 2-10. (2006)
- Kiyokawa Y., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y. Mapping the neural circuit activated by alarm pheromone perception by c-Fos immunohistochemistry. *Brain Res* 1043: 145-154. (2005)
- Kiyokawa Y., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y. Alarm pheromone that aggravates stress-induced hyperthermia is soluble in water. *Chem Senses* 30: 513-519. (2005)
- Okamura H., Mori Y. Characterization of the primer pheromone molecules responsible for the 'male effect' in ruminant species. *Chem Senses* 30 Suppl 1: i140-i141. (2005)
- 森裕司** フェロモンと中枢機能. *精神科* 7: 442-448. (2005)

ホームページ

<http://www.v.m.a.u-tokyo.ac.jp/koudou/SeuseiTop.htm>