

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：32669

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24770061

研究課題名(和文)イモリの性フェロモン、ソデフリンの受容機序とその個体群差に関する研究

研究課題名(英文) Perception pathways and molecular diversity of sex peptide pheromones in newts of genus *Cynops*

## 研究代表者

中田 友明 (Nakada, Tomoaki)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・講師

研究者番号：50549566

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：脊椎動物の性フェロモンの繁殖制御機序を解明するために、イモリの性フェロモンであるソデフリンの受容機序について分子・細胞・組織レベル、さらに個体群間において調べた。その結果、ソデフリンは繁殖期にプロラクチンとエストロジェンの影響で増加する鋤鼻器の感覚細胞で受容され、受容体は受容細胞に発現するGタンパク質から2型鋤鼻受容体であること、2つのシグナル伝達系を経て発生した性フェロモンの感覚信号は脳の副嗅球を一次感覚中枢として処理されることを見出した。また、フェロモンの構造と活性の発現には地域差があることが明らかになり、性フェロモンによる繁殖制御機序の一端が解明できた。

研究成果の概要(英文)：Physiological studies using the calcium (Ca) imaging technique revealed that a peptide male sex-pheromone of the newt, sodefrin is perceived by a small population of the vomeronasal (VN) cells from sexually developed females and a pheromone of a different species is ineffective. Subsequently, pharmacological tests were attempted to identify the signal transduction pathways in the Ca response in VN cells. The results indicated that the Ca responses to sodefrin are mediated by 2 different signal transduction pathways (Iwata and Nakada et al., 2013).

Morphological studies revealed that sodefrin-receptible microvillus VN cells express a certain G protein (Gao) coupled with vomeronasal type-2 receptors and its axons of these neurons extend toward the accessory olfactory bulb, which has been regarded as the main pheromone-sensing center (Nakada et al., 2014).

Diversity and evolution of sex pheromones in newts of genus *Cynops* were also examined by means of molecular biological technique.

研究分野：比較内分泌学

キーワード：フェロモン ソデフリン 鋤鼻器 副嗅球 イモリ 両生類

### 1. 研究開始当初の背景

性フェロモンは動物の繁殖に関わる重要な因子の1つであるが、その作用機序や、性フェロモンの個体差、配偶者選択がいかなる生物学的機序によっているかは未解明の課題であり、性フェロモンを効率的に動物繁殖に利用する際に極めて重要な情報である。

世界で初めて同定された脊椎動物のペプチドフェロモンあるソデフリン(sodefrin)は、雄のアカハライモリ(*Cynops pyrrhogaster*)の肛門腺より単離・同定された性フェロモンで、繁殖期の雌の性行動を誘起する(Kikuyama et al. Science, 1995)。ソデフリンは189残基の前駆体タンパク質からプロセッシングを受けて分泌されるアミノ酸10残基より成るペプチド(SIPSKDALLK)である。また、同属別種のシリケンイモリ(*C. ensicauda*)はソデフリンとアミノ酸2残基を異にするフェロモン(シレフリン:silefrin)を腹腺にもっていて、ソデフリンとシレフリンは互いに同種の雌にしか有効でないことは、フェロモンが生殖隔離の要因となり得ることを示唆している。ソデフリンの相同フェロモンは有尾両生類に広く存在するが、種ごとにアミノ酸配列が異なっており、アミノ酸配列の違いが性フェロモンの種特異性、すなわち種の判別や配偶者選択を可能にしていると思われる。

申請時、すでに申請者らは同種内でもソデフリン前駆体遺伝子に地域変異があることを見出し(Iwata, Nakada et al. Peptides 2005)、奈良地方で特異的に発現し、同地域の雌のみで性行動を誘起する新規フェロモン、アオニリン(aonirin)を単離同定していた(Nakada et al. Peptides 2007)。アオニリンは奈良産以外の雌には活性を持たないが、奈良産の雌だけにはソデフリンよりも強い活性を示すが、両者の構造的な違いはアミノ酸1残基の置換(ソデフリン:SIPSKDALLK アオニリン:SIPSKDAVLK)であり、変異フェロモンが特定地域個体群でのみ繁殖に必須な活性を持つという発見は、フェロモンの分子進化に伴う個体群間の受容性の差異が配偶者選択(種分化)の主な原因となることを示唆する初めてのデータであると共に、性フェロモンの個体差、分子的小進化が産業的運用の際にも重要であることを示唆していた。

### 2. 研究の目的

上述の通り申請者は申請当時、雌イモリの性行動を誘起するペプチド性フェロモンに種内変異があり、奈良に特異な新規フェロモンは奈良の雌のみで性行動を誘起することを見出した。本研究課題は、ソデフリンの受容処理機構を分子/形態/生理・行動/個体群という多角的視点で解析し、フェロモンによる配偶者選択・生殖隔離機構を解明することで、生物進化・種分化とフェロモンという新しい観点に立った研究の基盤を確立し、かつ、性フェロモンを応用した希少動物や産業動物の繁殖の効率化に資することを目的に行った。

### 3. 研究の方法

#### (1)[フェロモン作用機序の解明]

##### ① 細胞内での受容機序の解明

フェロモン受容細胞の観察や、内分泌的な受容細胞数の調節機構、受容時に細胞内で起こると予想されるシグナル伝達経路を解析するために、Caイメージング法を用いた。

受容細胞の解析には嗅電図によって受容細胞の存在の伺われた側鼻腔にある鋤鼻器を対象にし、内分泌的な受容細胞数の変化を知るために、行動的にソデフリンに反応する繁殖期の雌の他に、繁殖期の雄や非繁殖期の雌、生殖関連ホルモンの産生組織である脳下垂体や卵巣を除去した雌由来の鋤鼻細胞でもソデフリンへのカルシウム応答を観察した。

##### ② フェロモン受容処理、神経回路の同定

雄性フェロモンの暴露から雌の性行動誘起までの行程の多くは脳内で処理されており、フェロモンによる生殖制御機序の解明には感覚神経から脳の各部位に至るフェロモン応答神経系の解析が前提となる。そこで、成熟雌を用いてソデフリンを主に受容すると考えられている鋤鼻器と、それ以外の嗅上皮のそれぞれについて、嗅覚細胞から脳の一次中枢までの嗅覚神経系を組織形態学的に解析した。解析は、感覚上皮を分断する非感覚性上皮(図1A, B矢頭)の配置に従い、3領域(図1B:腹側嗅上皮, C:背側嗅上皮, D:鼻腔外側に在る鋤鼻器)に分けて行った。

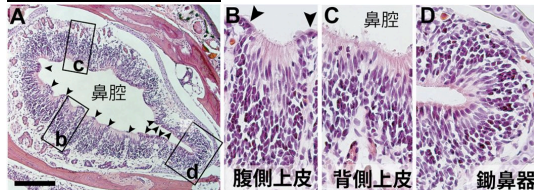


図1. イモリの嗅覚器と3つの感覚上皮

各上皮に位置する感覚神経は、主嗅覚系および鋤鼻系のそれぞれに特異発現する2種の嗅覚受容体(匂い受容体と2型鋤鼻受容体)と共役する個々のGタンパク質 $\alpha$ サブユニットの免疫染色によって、主嗅覚系嗅神経( $G\alpha_{olf}$ 陽性細胞)と鋤鼻系嗅神経( $G\alpha_{olf}$ 陽性細胞)の2タイプに分けて観察した。さらに3つの嗅覚上皮を露出する位置で環状に鼻部標本を切断して、各領域の感覚神経へそれぞれ異種の神経トレーサーを取り込ませて当該領域の嗅神経軸索の脳内の投射先を調べた。

次いで嗅細胞の投射をより詳細に調べるために、副嗅球の神経終末へ神経トレーサーを取り込ませ、逆行性に副嗅球へ投射する嗅細胞体を蛍光標識した上で、件のGタンパク質の免疫染色を行った。

##### (2)[種間・個体群間でフェロモン活性の相違]

これまでにソデフリン相同フェロモンの解析をしたアカハライモリ(*C. pyrrhogaster*)の地域集団(東北-新潟、関東-千葉、関西-奈良)に加えて、初めてアカハライモリ九州集団ならびにシリケンイモリ2亜種(奄美種:*C. e. ensicauda*と沖縄種:*C. e. popei*)において、各個体からソデフリン相同ペプチドのORF全長をクローニングし、得られた塩基配列を元に推測したフェロモンペプチドの各地域での活性比較を行い、フェロモン多様性の解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1)[ソデフリンの作用機序]

様々な条件で解離鋤鼻細胞を用いたCaイメージングを行った結果、性的に成熟した雌イモリの鋤鼻細胞中に判定されるソデフリン応答細胞の数は、ソデフリン濃度依存的に観察細胞のうち約1.2%まで増加した(図2A-C)。齧歯類では1つの鋤鼻細胞には原則1つの受

容体しか発現しないといわれており、このルールが両生類にも当てはまるならば、1%というソデフリン応答細胞数は妥当と考えられる。行動発現や嗅電図を指標として見積もられたソデフリンの最少有効濃度は1 pMと推定されており、本実験結果から約0.7%の細胞が反応すれば行動学的にフェロモン効果が発現すると考えられる。

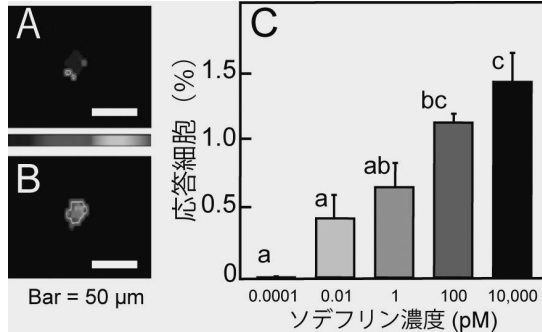


図2. イモリ鋤鼻細胞のソデフリン応答性

一方、シレフリンをアカハライモリの解離鋤鼻細胞に作用させた場合にはCa<sup>2+</sup>応答が誘起されなかった(図3)。個体レベルで知られていたフェロモンの種特異的分別能はフェロモン受容細胞のレベルでも備わっていた。

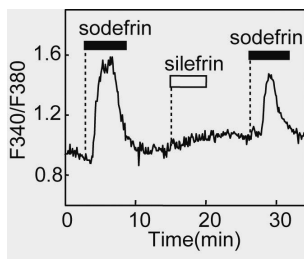


図3. フェロモン応答の種特異性

さらに性成熟したアカハライモリの雌では行動発現に十分なソデフリン応答細胞数が観察されるが、性的に未成熟の雌、性成熟した雄由来の鋤鼻細胞ではソデフリン応答細胞数が極めて少ないこともわかった(図3A)。また、ソデフリン受容能に繁殖期に血中量の上昇するホルモンが及ぼす影響について調べ、性成熟した雌イモリの下垂体と卵巣を除去(HX+OVX)するとソデフリン応答細胞は消失するが、HX+OVX群にプロラクチンとエストラジールを投与(+E2+PRL)すると擬似手術群に近い数のフェロモン応答細胞が出現した(図3B)。これらからE2、PRLはソデフリン受容細胞数を促進的に調節すると明らかになった。

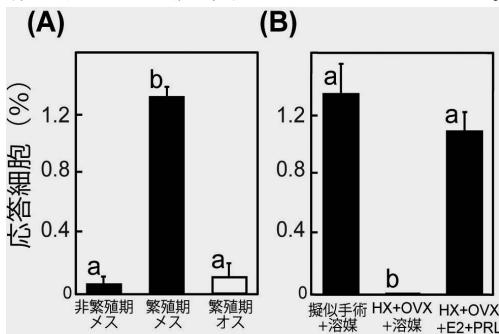


図4. イモリ鋤鼻細胞の性・ホルモン依存性

さらに受容情報伝達経路を解析するため、情報伝達物質に対する阻害薬のソデフリン受容・応答に及ぼす影響を調べた(図5)。

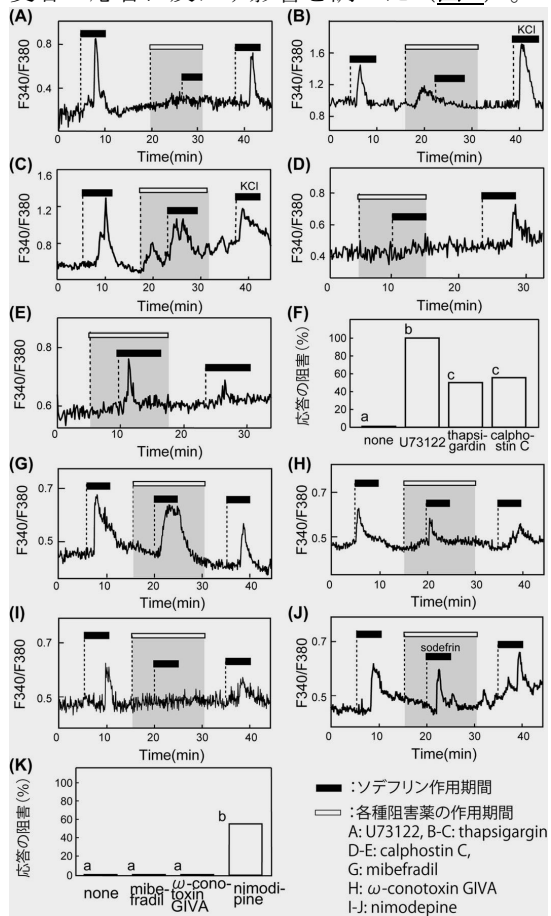


図5. フェロモン受容シグナル伝達系の解析

先ず哺乳動物で鋤鼻感覚神経の情報伝達に重要な役割をしていると考えられているホスホリパーゼC(PLC)の阻害薬U73122の作用下ではソデフリンによる応答性は完全に消失することがわかった(図5A, F)。PLCは、ホスファチジルイノシトール4,5-二リン酸(PIP<sub>2</sub>)を分解してジアシルグリセロール(DAG)とイノシトール1,4,5-三リン酸(IP<sub>3</sub>)を生成する情報変換ホスホリパーゼとして知られているので、ソデフリン応答時の細胞内Ca<sup>2+</sup>上昇の発生機序は①PLCの下流経路にあるIP<sub>3</sub>が小胞体膜上のIP<sub>3</sub>受容体との結合を介して小胞体内のCa<sup>2+</sup>を放出させる経路と、②PLCの下流経路にあるDAGがプロテインキナーゼC(PKC)をリン酸化して、PKCが細胞膜上のCa<sup>2+</sup>チャネルを開き細胞外からCa<sup>2+</sup>を流入させる経路の2つを想定した。そこでPLC/IP<sub>3</sub>経路による小胞体Ca<sup>2+</sup>放出がソデフリン応答に必須であるかを調べるために、小胞体中に貯蔵されているCa<sup>2+</sup>を、小胞体Ca<sup>2+</sup>ATPaseの阻害薬であるタプシガルギンによって薬理的に放出させたあとで、ソデフリンに対する応答性を調べた。その結果、タプシガルギン存在下でソデフリン応答が見られない細胞(図5B)と、応答が消失しない細胞(図5C)がほぼ同じ割合で存在することがわかった(図5F)。次にPLC/DAG/PKC経路を介し

て細胞外から  $Ca^{2+}$  を流入させる経路の介在を確かめるために、PKC の阻害薬であるカルホスチン C の存在下でソデフリン応答を調べた。その結果、ほぼ半数の細胞でカルホスチン C による応答阻害は見られなかった (図 5D) が、残り半数の細胞でソデフリン応答の阻害が見られた (図 5E, F)。カルホスチン C によって阻害を受けた細胞群はソデフリンによる  $Ca^{2+}$  の上昇が完全に抑制されているので、この細胞群はソデフリンにより PLC/IP<sub>3</sub> 経路を介して  $Ca^{2+}$  の上昇がおこる細胞群とは異なると考えられた。さらに細胞外から  $Ca^{2+}$  の流入を担っている  $Ca^{2+}$  チャネルを同定するために、それぞれ T 型、N 型、L 型の  $Ca^{2+}$  チャネルのブロッカーである、ミベフラジル (図 5G)、 $\omega$ -コノトキシン GVIA (図 5H)、ニモデピン (図 5I, J) の作用下でそれぞれソデフリン応答性を調べた。その結果、L 型  $Ca^{2+}$  チャネルのブロッカーであるニモデピンでのみほぼ半数の細胞で応答性が消失し (図 5I, K)、半数の受容細胞で L 型  $Ca^{2+}$  チャネルを介した細胞外  $Ca^{2+}$  の流入が起きる可能性が示唆された。以上の結果から、申請者らはソデフリン応答には小胞体から  $Ca^{2+}$  が放出される PLC/IP<sub>3</sub> 経路と L 型  $Ca^{2+}$  チャネルを介する PLC/DAG/PKC 経路の両者が関与していると結論し、脊椎動物ペプチドフェロモン情報伝達経路についての初の報告として下記論文①に発表した。

哺乳動物の嗅覚神経系は、『主嗅覚系 (環境中の匂い分子を嗅上皮で受容して主嗅球を一次感覚中枢として匂い知覚する神経系)』と『鋤鼻系 (フェロモンなどの化学物質を嗅上皮とは別の感覚上皮を有する鋤鼻器で受容し、一次感覚中枢の副嗅球を介して脳の扁桃体や視床下部へ刺激を伝達し、受容動物の情動や本能行動、内分泌系を非知覚的に調節している神経系)』に大別されるが、2つの嗅覚系は両生類の出現と共に分化したと考えられている。イモリの嗅覚上皮を3つの領域 (図 1B-D を参照) に分けた上で、主嗅覚系をよび鋤鼻系のそれぞれに特異発現する2種の G タンパク質  $\alpha$  サブユニットの免疫染色を行い、主嗅覚系嗅神経 ( $G\alpha_{olf}$  陽性細胞) と鋤鼻系嗅神経 ( $G\alpha_{\alpha}$  陽性細胞) を観察した結果、イモリの背側嗅上皮には  $G\alpha_{olf}$  陽性細胞が、鋤鼻器には  $G\alpha_{\alpha}$  陽性細胞がそれぞれ支配的分布を示し (図 6C-G)、哺乳動物の嗅上皮と鋤鼻器の細胞構成とほぼ一致していた。一方腹側嗅上皮では、ほぼ同数の  $G\alpha_{olf}$  をよび  $G\alpha_{\alpha}$  陽性嗅細胞が層状に観察された (図 6A, B, G)。即ち、進化的に初めて鋤鼻系を発達させた両生類の腹側嗅上皮では、2つの嗅覚器の機能分化は不完全で、主嗅覚系嗅細胞群と鋤鼻系嗅細胞群は、哺乳動物のように嗅上皮と鋤鼻器にそれぞれ局在しておらず、一部嗅上皮には両者が共存していることがわかった。

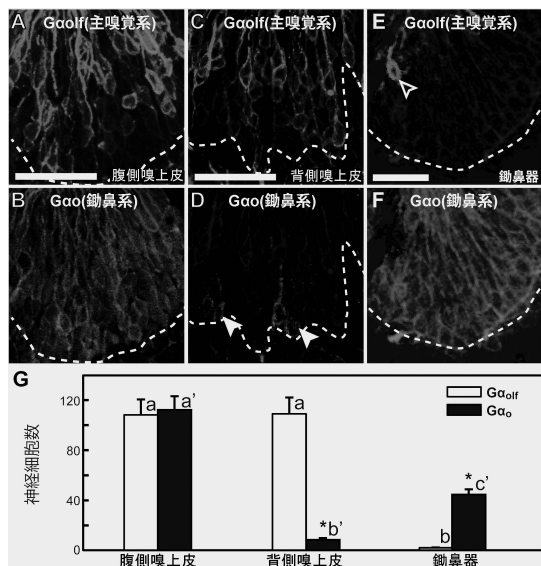


図 6. 嗅覚器に発現する G タンパク質

次に、3つの感覚上皮にそれぞれ異なる神経トレーサーを取り込ませ、当該領域の嗅神経軸索の投射先を調べた結果、 $G\alpha_{olf}$  陽性嗅細胞が支配的で、哺乳動物の嗅上皮に似た背側嗅上皮の軸索は全て主嗅球へと投射し、神経回路の面でも哺乳動物の主嗅覚系との同一性を認めた (図 7B, E)。同様に  $G\alpha_{\alpha}$  陽性嗅細胞が支配的な鋤鼻器からの軸索は全て副嗅球へと投射し哺乳動物の鋤鼻系と相同な神経系と認められた (図 7C)。一方で、 $G\alpha_{olf}$  をよび  $G\alpha_{\alpha}$  陽性嗅細胞が共存する腹側嗅上皮からの投射は主嗅球と副嗅球の両方に軸索投射が見られた (図 7F)。

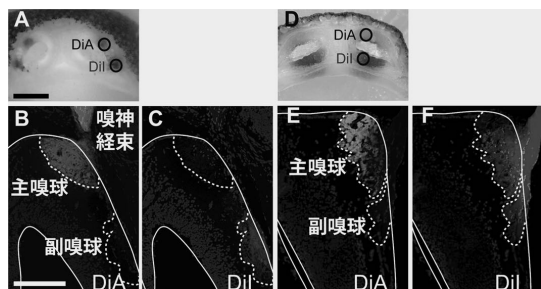


図 7. 各上皮感覚神経の脳内投射先

主嗅球をよび副嗅球での  $G\alpha_{olf}$  をよび  $G\alpha_{\alpha}$  陽性神経線維の分布を調べると、主嗅球には  $G\alpha_{olf}$  陽性線維が、副嗅球には  $G\alpha_{\alpha}$  陽性線維がそれぞれほぼ排他的に嗅神経軸索末端の集まる嗅糸球体層に分布していた (図 8A-B)。このことから、各上皮の  $G\alpha_{olf}$  陽性神経は主嗅球へ、 $G\alpha_{\alpha}$  陽性神経は副嗅球へそれぞれ軸索を伸ばしていると推測されるが、少数の  $G\alpha_{olf}$  陽性線維は副嗅球に投射していた (図 A 矢印)。

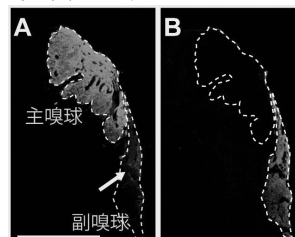


図 8. 脳内の G タンパク質発現パターン



副嗅球へ神経トレーサーを取り込ませ、逆行性に副嗅球へ投射する嗅細胞体を標識した上で、Gタンパク質を免疫染色した結果、副嗅球へ投射する嗅細胞は腹側嗅上皮と鋤鼻器のみにみられ(図9A)、ほとんどが $G\alpha_o$ 陽性嗅神経であることが確かめられた(図9D-E, H-I)。一方で $G\alpha_{olf}$ 陽性神経は、腹側嗅上皮では副嗅球へ投射していなかった(図9B-C)、鋤鼻器にごく少数みられた $G\alpha_{olf}$ 陽性嗅神経は副嗅球においた神経トレーサーで逆行性にラベルされていた(図9F-G)。即ち、鋤鼻器の $G\alpha_{olf}$ 陽性神経軸索は例外的に主嗅球でなく、副嗅球へ投射していることが確かめられた。この投射は副嗅球に少数みられた $G\alpha_{olf}$ 陽性線維(図8A矢印)が鋤鼻器の $G\alpha_{olf}$ 陽性神経から伸びたものであることを示していると思われる。

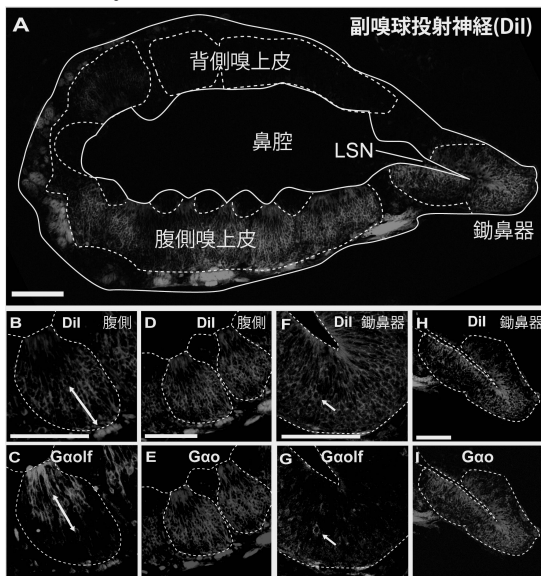


図8. 副嗅球投射神経のGタンパク質発現

本研究の結果から、ソデフリンの受容を主に担う鋤鼻器には $G\alpha_o$ を発現する鋤鼻系感覚神経が圧倒的に多数存在しており、ソデフリンは $G\alpha_o$ と共役する2型鋤鼻受容体を介してフェロモン応答を引き起こすと示唆された。2型鋤鼻受容体ファミリーのリガンドはペプチドもしくはアミノ酸であると考えられているから、10残基ペプチドであるソデフリンの受容体もこの2型受容体ファミリーに属すものと考えられる。また、 $G\alpha_o$ 陽性細胞は鋤鼻器以外に腹側嗅上皮の基底側にも多く存在していたが、ソデフリン刺激時の嗅電図測定で鋤鼻器以外に腹側嗅上皮でも嗅神経活動記録が得られる報告と合わせて考えると、腹側嗅上皮の $G\alpha_o$ 陽性嗅細胞もソデフリン受容に関わっている可能性が考えられる。これらの $G\alpha_o$ 陽性嗅細胞の軸索はイモリでは全て副嗅球に投射していたが、哺乳動物をよび無尾両生類では副嗅球が処理する嗅覚情報は脳皮質には到達せず(すなわち知覚されず)、情動を司る扁桃体や生得的行動や内分泌中枢である視床下部へと投射している。したがってイモリの $G\alpha_o$ 陽性嗅神経もやはり一般の匂い情報を知覚するものではなく、ソデフリンのようなフェロモン刺激に応じて、情動や本能行動、内分泌系を調節していることが予想される。前述の通り、成熟雌イモリにおいてプロラク

チンとエスラジオールが鋤鼻器のソデフリン受容応答細胞の数を増加させることから、生殖期の内分泌環境の変動が嗅細胞の新生と分化に影響を与えていることも強く示唆されている。嗅神経と嗅球内の神経細胞は例外的に成体神経新生が盛んで、恒常的に古い神経は新しいものに置き換わりながら機能を維持している。生殖期に産卵、放精のため水中適応する両生類は、環境の変化に伴って受容すべき嗅覚物質が揮発性から水溶性分子へと変化するはずであり、機能的・形態的な嗅覚系の季節性再構築があるのではないと思われる。本研究ではすべて生殖期の雌イモリを用いて実験を行ったが、今後 $G\alpha_o$ をよび $G\alpha_{olf}$ 陽性嗅細胞の動態と内分泌要因との関係を精査していくことで、ホルモンによるフェロモンを介した生殖制御機序の解明につながると期待している。本研究は下記論文②に発表した。

## (2)[種間・個体群間でフェロモン活性の相違]

ソデフリンは、前駆体遺伝子上に10残基のペプチドとしてコードされており、同遺伝子の変異はフェロモンの構造変化、性行動の成立に影響する。本課題でそれぞれ種内においてフェロモンの種特異性は受容体・細胞レベルでの応答特異性に起因していることが明らかになってきた。今回、本州のアカハライモリと奄美大島、沖縄島のシリケンイモリ2亜種でソデフリン相同ペプチドの発現パターンと地域ごとのフェロモン活性を調べたところ、本州・沖縄種間では生殖隔離を示すようなフェロモンの分化がみられる一方で、地理的にも中間的な奄美大島種は両者に対して中間的なフェロモンの生成・受容特性を有することを発見し、同種内でもフェロモン分子の地域分化、いわばフェロモンの“方言”の存在が明らかになってきた。

本研究課題より、性フェロモンの受容から脳内の神経回路に至るまでの細胞生物学的、組織学のおおその受容機序に加えて、同種内においても性行動に影響するようなフェロモンの分子小進化が潜在的に起きていることを明らかにできた。これまで観察した限りでは、フェロモンの分化に伴う生殖隔離は種内では不完全であり、いわば“方言”とみなせる変異フェロモンペプチドの発現とその活性が確認される一方で、“共通語”とみなせるフェロモンペプチドが全ての調査個体で発現していた。このことから、ある集団内で種内共通のフェロモンペプチドが機能を失うか、集団特有の変異フェロモンの活性が共通ペプチドを凌駕するほどまで高まった場合に、他地域集団との生殖隔離が成立するものと思われる。ただし、このフェロモンによる生殖隔離は必ずしも種分化とは一致せず、性フェロモンにおいて、オキナワシリケンイモリはアカハライモリと完全に隔離されているが、別亜種のアマミシリケンイモリでは同種のオキナワシリケンイモリばかりでなく、別種のアカハライモリとも共通のフェロモン分子を持っていた。また、ソデフリン配列が奄美大島の個体群でも見られたことから、ソデフリンはアカハライモリとアマミシリケンイモリが種分化した際にはすでにフェロモンとして機能しており、種々

の相同フェロモン分子はソデフリンから派生してきたと考えるのが妥当であろう。

本研究において性フェロモンを応用した希少動物や産業動物の繁殖の効率化を目指そうとした場合に起こりうる幾つかの問題点が抽出されたと考える。まず、受容動物の性的発達の問題である。ソデフリンのように直接性行動を誘起するようリリーサーフェロモンの応用は即時性があるように思われるが、実際には性的に成熟した受容動物にしか効果がないことが分かった。リリーサーフェロモンの使用に際しては、対象個体内分泌の状態を変化させるプライマー効果をもつフェロモンを併用するなどの対策が必要かもしれない。次いで性フェロモンの構造と活性には個体差や地域性がある点も確認された。受容動物の遺伝的背景を無視したフェロモンの応用は十分な効果を示さないかもしれない。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

### 〔雑誌論文〕(計2件)

①Takeo Iwata, Tomoaki Nakada (筆頭著者扱), Fumiyo Toyoda, Toshihiko Yada, Seiji Shioda, Sakae Kikuyama, Responsiveness of vomeronasal cells to a newt peptide pheromone, sodefrin as monitored by changes of intracellular calcium concentrations, *Peptides*, 45, 2013, 15-21. 査読有,

DOI: 10.1016/j.peptides.2013.04.006

②Tomoaki Nakada, Kimiko Hagino-Yamagishi, Koki Nakanishi, Makoto Yokosuka, Toru R. Saito, Fumiyo Toyoda, Itaru Hasunuma, Takashi Nakakura and Sakae Kikuyama, Expression of G Proteins in the Olfactory Receptor Neurons of the Newt *Cynops pyrrhogaster*: Their Unique Projection into the Olfactory Bulbs, *J. Comp. Neurol.* 522, 2014, 3501-3519. 査読有, DOI: 10.1002/cne.23619

### 〔学会発表〕(計12件)

①Tomoaki Nakada et al., Newt olfactory receptor neurons: Expressing of G proteins and projection to the olfactory bulbs, The 8th International Symposium on Amphibian and Reptilian Endocrinology and Neurobiology, 2014年11月7日-9日, Okazaki conference center (愛知県)

②中田友明 他、プロラクチンとエストロジェンによる雌イモリ嗅覚上皮の組織学的変化、日本味と匂学会48回大会、2014年10月2日-4日、静岡市清水文化会館マリナート(静岡県)(優秀ポスター賞受賞演題)

③中田友明、(招聘講演)アカハライモリをモデルとした化学感覚の研究、日本実験動物科学技術さっぽろ2014(第61回日本実験動物学会総会)、2014年5月15日-17日、札幌コンベンションセンター(北海道)

④中田友明 他、生殖期イモリ鋤鼻上皮細胞のソデフリン受容と信号伝達経路、第38回日本比較内分泌学会大会・第40回日本神経内分泌学会学術集会合同大会、2013年10月24-26日、宮崎市民プラザ(宮崎県)

⑤中田友明 他、プロラクチンとエストロジェンによるアカハライモリの行動と嗅覚上皮の組織学的変化、第37回日本比較内分泌学会大会、2012年11月29-12月1日、福井大学文京キャンパス(福井県)

⑥中田友明 他、エストロジェン及びプロラクチンによるアカハライモリ, *Cynops pyrrhogaster* の嗅覚受容体の組織化学的構造ならびに行動の変化、日本味と匂学会46回大会、2012年10月3日-5日、大阪大学コンベンションセンター(大阪府)

他6件

### 〔図書〕(計4件)

①中田友明 他、日本比較内分泌学会、比較内分泌学40巻152号:雌イモリ鋤鼻細胞のソデフリンに対する応答性:ホルモンによる調節と細胞内情報伝達機構、2014年、111ページ(pp.94-96)

②中田友明 他、日本比較内分泌学会、比較内分泌学41巻154号:イモリの感覚器に発現するGタンパク質の局在と嗅覚神経経路、2015年、63ページ(pp.38-40)

③中田友明 他、比較実験動物教育研究会編、アドスリー、比較実験動物ハンドブック:両生綱および硬骨魚綱、2013年、48ページ(pp.29-48)

④Sakae Kikuyama, Fumiyo Toyoda, Kazutoshi Yamamoto, Takeo Iwata, Tomoaki Nakada and Itaru Hasunuma, Academic Press/Elsevier, Handbook of Biologically Active Peptides, 2nd edition, Chapter54 "Sodefrin and Related Pheromones", 2013, 7 pages (pp.384-390)

### 〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

該当項目なし

○取得状況(計0件)

該当項目なし

### 〔その他〕

該当項目なし nakada

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

中田友明(Tomoaki Nakada)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・講師  
研究者番号:50549566

### (2)研究分担者

該当項目なし

### (3)連携研究者

①菊山 榮(Sakae Kikuyama)

早稲田大学・教育総合科学学術院・  
名誉教授  
研究者番号:20063638

②豊田 ふみよ(Fumiyo Toyoda)

奈良県立医科大学・医学部・講師  
研究者番号:10244708

③山岸 公子(Kimiko Hagino-Yamagishi)

財団法人東京都医学研究機構・  
東京都臨床医学総合研究所・主任研究員  
研究者番号:20200602

④横須賀 誠(Makoto Yokosuka)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・教授  
研究者番号:90280776

### (4)研究協力者

①蓮沼 至(Itaru Hasunuma)

②中倉 敬(Takashi Nakakura)

③中西 功樹(Koki Nakanishi)