

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：82111

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22614

研究課題名（和文）反芻動物の繁殖機能を制御するフェロモン作用機序の全貌解明

研究課題名（英文）Investigation for pathway of pheromone that regulates reproductive function in ruminants

研究代表者

若林 嘉浩（Wakabayashi, Yoshihiro）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・上級研究員

研究者番号：00510695

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒツジやヤギなどの“雄効果フェロモン”は、雄から分泌されて雌の繁殖中枢を活性化させ、性腺刺激ホルモン放出ホルモン/黄体形成ホルモン分泌を促進し、最終的に卵巣活動賦活化する作用を持つ。本研究では、この雄効果フェロモンをモデルとして、その受容部位特定とその情報伝達経路を解析した。鋤鼻器閉塞ヤギにおいて雄効果フェロモンの作用が認められたことから、このフェロモンの受容部位は主に嗅上皮であることが示された。また、ヤギでは鋤鼻受容体/Gi2発現嗅神経が嗅上皮に広く分布しており、その軸索は主嗅球へと投射していた。これらの神経細胞が、嗅上皮でフェロモンを受容している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、反芻動物の雄効果フェロモンという繁殖機能促進作用を持つ作用に焦点を当て、その作用機序解明を目指した。哺乳類のフェロモン研究は、主に齧歯類を中心に進展してきたが、本研究によりヤギ雄効果フェロモンは、主に嗅上皮で受容され、その情報は嗅球を経由することが示唆された。これらの結果は、哺乳類のフェロモン受容機構には大きな種差があることを示しており、学術的意義があると考えられた。また、本研究結果である繁殖機能を促進するフェロモンの作用機序の解明により、類縁であるウシの繁殖機能を促進するフェロモンを利用した繁殖向上技術開発のための基礎的知見となる。

研究成果の概要（英文）：“Male effect” pheromone in sheep and goats are released by mature males to activate the female reproductive center, promote gonadotropin-releasing hormone/ luteinizing hormone secretion, and finally activate ovarian function. In this study, we used this male effect pheromone as a model to identify its detection site and analyzed the signal transduction pathway. The effect of the pheromone was observed in vomeronasal occluded goats, indicating that the detection site of the pheromone is mainly the olfactory epithelium. In goats, vomeronasal receptor/Gi2 expressing olfactory neurons were widely distributed in the olfactory epithelium, and their axons projected to the main olfactory bulb. It was suggested that these neurons may receive pheromones in the olfactory epithelium in goats.

研究分野：神経科学

キーワード：フェロモン 繁殖制御 鋤鼻系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

“雄効果”は、卵巢活動が停止した非繁殖期の雌に、雄(雄被毛)を呈示すると、停止していたパルス状 GnRH/LH 分泌が亢進されて卵巢を刺激し、やがて活動回帰する効果である。このフェロモンは、テストステロン依存的に皮脂腺で産生され、その主成分が 4-ethyl octanal であることを、覚醒下ヤギの繁殖中枢神経活動を指標とした生物検定系を用いて明らかにしてきた。

哺乳類のフェロモン研究は、齧歯類を中心に進展してきた。ヒトなどを除く多くの哺乳類には、匂いを受容する嗅上皮とフェロモンを受容する鋤鼻器という 2 種類の嗅覚器が存在する。齧歯類の鋤鼻器にはフェロモンを受容すると考えられる鋤鼻受容体が発現し、フェロモン情報は主に副嗅球 扁桃体内側核 視床下部へ伝達されると考えられる。一方、ヒツジでは、鋤鼻器あるいは副嗅球を除去した個体に対して雄効果フェロモンを提示した場合でも、最終的なフェロモン反応である血中 LH 分泌が促進されることから、雄効果フェロモンの受容には鋤鼻器は必要がなく、その受容部位は嗅上皮であると考えられている。また、シバヤギでは、鋤鼻受容体が鋤鼻器だけでなく嗅上皮にも存在すること、鋤鼻受容体と共役して細胞内シグナル伝達に関わる G タンパク質 (G_{i2}) が鋤鼻受容体発現嗅細胞に共発現することから、偶蹄類では、これらの嗅神経細胞が雄効果フェロモン受容に関与していることが示唆され、フェロモン受容・情報伝達機構は、齧歯類とは比較して大きな違いがある。また、ヒトでは“寄宿舍効果”など有名なフェロモン効果が報告されているが、成人は鋤鼻器や副嗅球をもたないなど、明らかにフェロモンの受容・情報伝達機構は、生物種によって大きく異なると考えられている。雄効果フェロモンは、哺乳類において、「4-ethyl octanal という単一分子によって視床下部から GnRH/LH 分泌が誘起される」という明確なアウトプットが解明されているフェロモンであり、これをモデルとして用いることで、フェロモンの受容から情報伝達経路、視床下部での情報処理機構の全貌を解明することが可能であると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、雄効果フェロモンの主要な成分として同定された 4-ethyl octanal を用いて、シバヤギフェロモン受容部位から、最終的に視床下部へと情報が伝達されるまでの情報伝達経路の詳細を明らかにし、繁殖中枢を賦活化する効果を持つ反芻動物のフェロモン作用機構の全貌を解明することを目的とした。本研究によって、近類種であるウシの繁殖機能を促進するフェロモンの同定や、これを利用した新たな生産性向上技術開発のための知見の蓄積を目的とした。

1. 研究の方法

(1) 雄効果フェロモン受容部位の解明

ヤギ雄効果フェロモン受容における鋤鼻器の役割を明らかにするために、ヤギの繁殖中枢神経活動解析手法を用いて、ヤギ雄効果フェロモンが鋤鼻器で受容される可能性について詳細に検討した。具体的には、卵巢を摘出したシバヤギの視床下部弓状核キスペプチンニューロン群近傍に、多ニューロン発火活動 (Multiple unit activity; MUA) 記録電極を留置した。これらの個体 (3 頭) に、鋤鼻器が開いている切歯管にスタイレットを挿入して鋤鼻器閉塞した状態で、MUA を記録しつつ、雄効果フェロモン (成熟雄被毛 1g) を 1 秒間呈示した。また、同一個体を用いて、鋤鼻器閉塞処置を行っていない状態で同様の呈示を行った。各実験群のフェロモン呈示前後における MUA の変化を比較した。

(2) 反芻動物の嗅上皮におけるフェロモン受容経路の解明

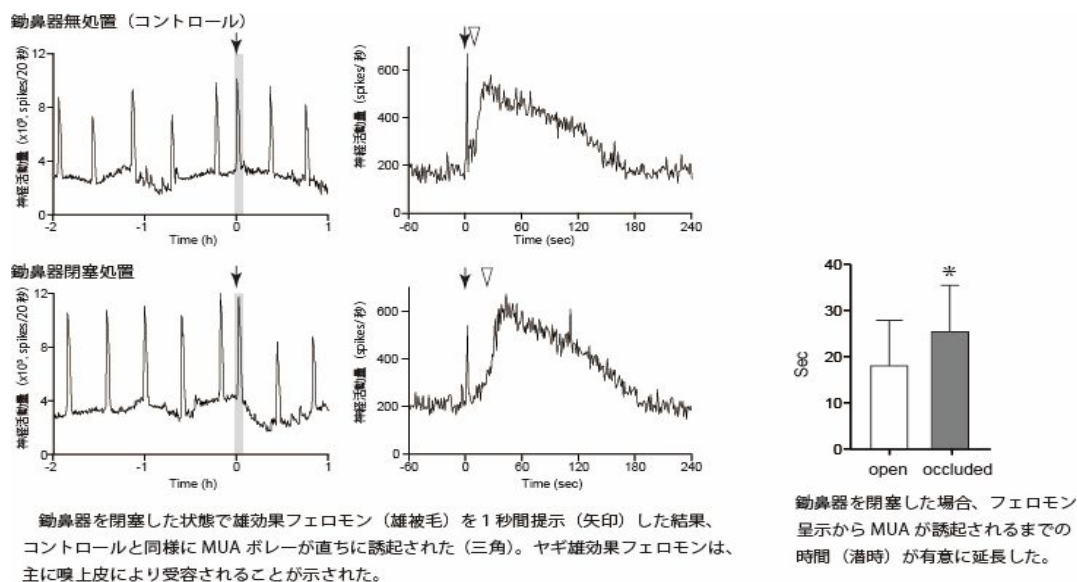
雄効果フェロモンが、嗅上皮と鋤鼻器の両方で受容されることから、2 つの感覚神経細胞に共通して発現する受容体として、鋤鼻受容体に着目し、その嗅上皮内での局在や、神経軸索の投射先について、雌シバヤギの嗅上皮および嗅球より組織切片を作成し、in situ hybridization 法あるいは免疫組織染色法等を用いて形態学的解析を行った。

4. 研究成果

(1) 雄効果フェロモン受容部位の解明

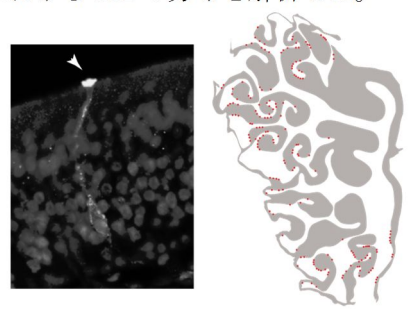
繁殖中枢に MUA 電極を留置した卵巢摘出雌ヤギ (3 頭) に、雄効果フェロモンを呈示した。呈

示前後の MUA の変化について、雄効果フェロモン呈示から MUA ボレーが誘起されるまでの時間（潜時）雄効果フェロモンによって誘起された MUA ボレーの高さ（振幅）およびその持続時間を解析し、鋤鼻閉塞と開放群を比較したところ、鋤鼻閉塞群では、有意に潜時が延長していることが明らかになった。一方、MUA ボレーの高さ（振幅）や持続時間には差は認められなかった。これらの結果から、シバヤギでは、これまでヒツジでの報告と同様に、雄効果フェロモンは、鋤鼻器ではなく嗅上皮において受容されていることが示された。一方、雄効果フェロモン受容・効果発現の過程において、これまでは鋤鼻器は必須ではないものの、鋤鼻器が雄効果フェロモン受容に機能的に関与しているか否かは不明であったが、本研究の結果から、雄効果フェロモンの受容には、鋤鼻器も機能的に関与していることが示された。雄効果フェロモンの受容において、嗅上皮と鋤鼻器の両方で同時にフェロモン分子が受容されることによって、感度の向上や作用を増強するなどの機能をもつと想定されるが、詳細な機能を解明するため、今後研究を進める必要がある。



（3） 嗅上皮におけるフェロモン受容経路の解明

ヤギ嗅上皮において、鋤鼻受容体/Gi2 発現嗅細胞の局在を解析するため、抗 Gi2 抗体による免疫染色を行なった結果、Gi2 タンパクは細胞内では繊毛に多く存在していることが明らかになった。繊毛は、嗅神経細胞が外界からの分子を受容する場所であるため、Gi2 は鋤鼻受容体と共役して機能していると考えられた。また、Gi2 陽性嗅神経細胞の、嗅上皮における局在を観察したところ、嗅上皮の特定のエリアに局在していることが明らかになった。これらの神経細胞が、どこに情報を伝達しているのかを確かめるため、嗅球/副嗅球における Gi2 の分布を解析した。その結果、シバヤギ嗅球上に、Gi2 陽性系球体が複数存在することが明らかになった。また、嗅球に存在する Gi2 陽性系球体は、NQO1 陰性であった。鋤鼻神経細胞は NQO1 陽性であることから、嗅球上の Gi2 陽性系球体は、Gi2 陽性嗅神経細胞からの軸索投射先であることが示唆された。本研究の結果より、鋤鼻受容体/Gi2 発現嗅神経細胞は嗅上皮においてフェロモン受容に関わっている可能性があり、受容したシグナルは朱嗅球へと伝達されることが示唆された。今後は、雄効果フェロモンにより刺激した個体の嗅上皮において、刺激依存的に発現が上昇するマーカーを用いた解析を行い、これらの神経細胞が実際にフェロモンによって活性化されるか否かを検証する必要がある。



Gi2 タンパクは、嗅神経細胞の繊毛（三角）に局在している（右写真）。Gi2 発現嗅神経細胞（左図）は、嗅上皮の中で特定のエリアに局在していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------