

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月3日現在

機関番号：11201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23880002

研究課題名（和文） ネコの本能行動の発動を制御する嗅覚システムの解明

研究課題名（英文） Investigation of olfactory system regulating the innate behavior in the domestic cat

研究代表者

宮崎 雅雄 (MIYAZAKI MASAO)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：20392144

研究成果の概要（和文）：

ネコは、同種の尿を嗅ぐと、頭を持ち上げ口を半開きにして恍惚とした表情を提示する。これはフレーメンと呼ばれる本能行動である。フレーメンが単純で再現性の良い本能行動であり、ネコの脳が齧歯類より高次で霊長類ほど複雑になっていない点に着目し、フレーメンを行動レベルから分子レベルまで研究して、高次の動物の本能行動の発動機序を解明するための研究基盤を構築した。

研究成果の概要（英文）：

Our main purpose of this study is to elucidate olfactory systems regulating an instinctive behaviour called the “flehmen response” observed in the domestic cat. When a cat encounters urine marks deposited by other cats, the cat sniffs the urine marks with considerable interest, and then shows an instinctively fixed action pattern; the cat raises the head and holds the mouth partially open with an “enraptured” expression for a few seconds. This study demonstrated that chemical properties of flehmen inducing pheromones, key steps for purification of the pheromones, and olfactory systems detecting the pheromones by both analytical and behavior approaches.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：応用動物科学

キーワード：嗅覚、フェロモン、本能行動、ネコ

1. 研究開始当初の背景

哺乳動物は、種や性、年齢、個体に特有なおいやフェロモンなど化学物質を嗅覚コミュニケーションの重要な媒体として利用している。においやフェロモンは、尿や皮脂腺、生殖腺からの分泌物に含まれており、それらの生合成機構や受容機構、情報処理機構は、各動物が進化の過程で独自に獲得してきたものと考えられている。当該分野の研究は、現在マウスで盛んに行われているが、他の動物では、あまり研究されていないのが現状である。例えば、ネコは我々にとっても馴染み深い動物であり、ネコが尿をマーキングして縄張りを確保していることは広く知られている。しかし、ネコが縄張り内でどのような化学物質を嗅覚情報媒体として使っているか、それがどのように受容され神経回路で処理されているか、実のところ殆ど分っていない。筆者らは、過去にネコ特有な尿臭の生成機構を明らかにした。ネコの尿を検査すると腎臓病時だけでなく健常時でも尿に大量のタンパク質が検出される。ネコの生理的タンパク尿の原因を調べたところ、エステラーゼ活性を有する新規な尿主要タンパク質 (Cauxin と命名) が同定できた。更に Cauxin が尿中で 3-methylbutanol-cysteinyl-glycine を加水分解して 2-amino-7-hydroxy-5,5-dimethyl-4-thiahepta noic acid (Felinine) を生成すること、Felinine が更に分解されネコ特有な尿臭を放つ 3-mercapto-3-methyl-1-butanol (MMB) が生成されることが分かった。MMB はネコ特有なおい物質で、尿中濃度が雄で高く、雌で低く、仔ネコで検出されないため、ネコの尿に種や性別、年齢の情報を付加する嗅覚情報媒体としての機能があると考えられた。このように種特有なおいの生産機構が明らかになり、「においが嗅覚を介して動物の行動や生理機能にどのような影響を与えるか?」、ネコ特有な本能行動の一つに着目して本研究を立案した。ネコにネコの尿を与えると、尿を 20 秒くらい丹念に嗅いだ後「フレーメン」と呼ばれる、頭を持ち上げ口を半開きにして恍惚とした表情を提示する。ネコにイヌなど他種の尿を嗅がせてもフレーメンは観察されないため、ネコ特有な尿中物質がフレーメンを誘起していると考えられた (MMB 単体に活性は無い)。

2. 研究の目的

本研究では、ネコのフレーメンを制御する嗅覚システムを行動レベルから分子レベルまで解明し、フレーメンの未知な役割と発動制御に関わる分子神経メカニズムを解明を目指している。そして得られた研究成果を基に、人類とネコ科動物の良好な共生生活を構築するアプリケーションの開発に応用したい

と考えている。本研究では以下の2点に取り組んだ。

(1) フレーメンの役割解明：実験ネコや野良ネコの行動解析からフレーメンの役割を解析する。特に雄ネコが同性の尿に提示するフレーメンの役割を明らかにする。

(2) ネコが尿を嗅いでからフレーメン発動までの分子神経メカニズム解明する：尿からフレーメン誘起フェロモンを精製してその化学構造を同定する。次にフェロモンが鼻と鋤鼻器のどちらで受容されるか嗅覚器と処理経路を特定する。



ネコにネコ尿を嗅がすと(左)フレーメン(右)を提示する

3. 研究の方法

(1) フレーメンの機能解析

先行実験で雄ネコが発情雌ネコの尿だけでなく、非発情雌ネコ尿や他の雄ネコ尿を嗅いだときもフレーメンをすることが分かり、フレーメンは性行動に関連するものと関連しないものに分類できる可能性が示唆された。そこで性行動に関連しないフレーメンに着目し、雄ネコに自己尿と非自己尿を嗅がせて、尿を嗅ぐ時間と2分間に行うフレーメン回数を計測した。特にネコが自己尿にフレーメンを提示するか、雄ネコのフレーメンの回数が非自己尿を提供したネコの年齢や性別、去勢の有無、発情の有無、血縁関係に影響するか調べ、性行動に関連しないフレーメンが自己・非自己の識別や個体識別に関係しているか調べた。

(2) フェロモンの精製法検討

フェロモンは雄ネコのフレーメンを生物検定の指標にして精製法を検討した。精製法は、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーを使って検討した。

(3) フェロモン受容機構の解析

ネコの鋤鼻器は切歯管と呼ばれる管を経て上顎前歯の裏側に開口していることが分かっているため、ネコに麻酔をかけ、切歯管を医療用ボンドで塞ぎ、フェロモン活性画分をネコに嗅がせフレーメンの有無を調べた。

4. 研究成果

(1) フレーメンの機能

フレーメンはネコ科動物、ウシなど偶蹄類、ゾウの雄が発情雌の尿を嗅いだ時に観察される。これは雄が発情雌の尿中性フェロモンを口から鋤鼻器 (フェロモン受容器で鼻中隔

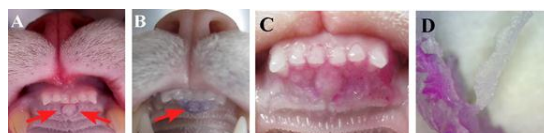
に位置し上顎前歯の裏側に開口部がある)に取り込む目的で行い、フレーメン自体もフェロモンで誘起されると報告されていた。しかし本研究においてオスやメスネコに性別や年齢の異なる様々な同種の尿を嗅がせて詳細に行動解析すると、雄ネコが発情雌ネコの尿を嗅いだ時だけでなく、他の同性の尿を嗅いだ時もフレーメンを提示することが明らかになった。よってフレーメンは、これまで報告されていた性フェロモンの取り込み以外の未だ報告されていない未知な役割も担っていることが示唆された。そこで次に、オスネコに自己の尿と非自己の尿を順番に嗅がせてみた。その結果、オスネコは自己の尿にはフレーメンせず、非自己の尿に対してフレーメンを提示することが分かった。以上の結果、ネコのフレーメンは大きく二つに大別できることがわかった。一つはオスネコが発情メスの尿に対して行う性的なフレーメンであり、もう一つはオスネコが非自己の尿に対して行うフレーメンである。よってネコにおいてフレーメンは性的フェロモンを鋤鼻器取り込む機能と非自己の嗅覚シグナルを鋤鼻器に取り込む二つの機能があると示唆された。

(2) フェロモンの化学特性と精製法
オスネコの尿を混合した試料をガラスバイアルにいれ、40℃で加温しながら窒素ガスで尿の揮発成分をTenaxTA捕集管に導き、さらにその先にポリバックを取り付けて捕集管にトラップされなかった揮発成分を全量回収した。ポリバックに対してネコがフレーメンを示さなかった。そこで捕集管に濃縮された揮発成分を加熱脱却装置を備えたガスクロマトグラフで分画しながらフレーメンの有無を指標にフェロモンの精製条件を検討中である。これまでに得られたGC-MSの構造解析の結果を基に官能基の一つを化学修飾するとフレーメン活性がなくなることが明らかとなり、現在候補物質の標品を合成中で引き続きフレーメンフェロモン完全精製に向け研究を継続する。

(3) フレーメンフェロモン受容機構
一般に哺乳動物には、主嗅覚系と鋤鼻系と呼ばれる2つの受容機構がある。主嗅覚系では揮発性におい分子を鼻の嗅上皮細胞で受容し、受容シグナルは主嗅球を經由して脳に伝わる。鋤鼻系では、揮発性、不揮発性のフェロモンを鋤鼻器の感覚細胞で受容し、受容シグナルは副嗅球を經由して脳に伝わる。フレーメンは切歯管から鋤鼻器にフェロモンを取り込むと考えられているので、フレーメンフェロモンが嗅上皮と鋤鼻上皮のどちらの嗅覚受容体で受容されているか明らかにするために、まず鋤鼻器を物理的に外界と遮断したネコを作成し、フレーメン消失の有無を調べた。つまり、処置群でフレーメンが観察

できればフレーメン誘起フェロモンが鋤鼻系で受容されることが、観察できなければ主嗅覚系で受容されることが分かる。この結果、切歯管を塞いだネコでもネコの尿あるいはフェロモン粗精製画分を嗅がすとフレーメンが観察された。よってフレーメンフェロモンは嗅上皮の嗅覚受容体で受容されていることが明らかとなった。

今後は本研究で得られた研究成果を踏まえ、フレーメンフェロモンの精製法の確立とフェロモン受容体の同定に取り組む研究に発展させたいと考えている。



A.未処理の切歯管、B.ボンドで塞いだ切歯管、C.ボンドが乾いた後にフロキシシンで口腔内を染色し洗浄した。ボンドの表面だけが染色されている。D.実験終了後に剥がしたボンド塊、切歯管内で固まったボンド部分は染色されていないため、実験中は、切歯管が完全にふさがれていたことが確認できた。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計5件)

1. Hojo, W., Miyazaki, M., Nishimura, T., Nakamura, N., Yamashita, T. The tissue distribution of a putative pheromone precursor, felinine and its precursor, 3-methylbutanol-glutathione, in the domestic cat, The International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT)12, Stockholm Waterfront (Stockholm), 2012/6/24
2. Miyazaki, M., Hojo, W., Nishimura, T., Miyazaki, T., Laine, R., Suzuki A., and Yamashita, T. The chemosensory system for flehmen response in the domestic cat. The International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT)12, Stockholm Waterfront (Stockholm), 2012/6/24
3. 宮崎雅雄, 北條渉, 西村貴志, 山下哲郎, ネコの本能行動を制御する嗅覚システムの解明, 日本農芸学会 2012 年度大会、京都女子大学 (京都) 2012/3/24
4. Nishimura, T., Hojo, W., Miyazaki, T., Laine, R., Yamashita, T., and Miyazaki, M. Urinary lipids can be used as attractants of Felidae species, Chemical signals in vertebrates XII, The Schloss Friedrichsfelde and the Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research (Berlin), 2011/8/24
5. Miyazaki, M., Miyazaki, T., Toyonaga, M., Tsutsui, T., Yamashita, T., Laine, R., and Suzuki, A., Flehmen response, an instinctive behavior observed in the domestic cat, Chemical signals in vertebrates XII, The Schloss Friedrichsfelde and the Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research (Berlin), 2011/8/24

[その他]
ホームページ等
<http://univdb.iwate-u.ac.jp/profile.php>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮崎 雅雄 (MIYAZAKI MASAO)
岩手大学・農学部・准教授
研究者番号：20392144