

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成27年度研究進捗評価用〕

平成24年度採択分
平成27年3月20日現在

嗅覚受容体のナチュラルリガンドの同定と
その生物学的機能の解明

Identification of natural ligands for olfactory
receptors and elucidation of biological function

課題番号：24227003

東原 和成 (TOUHARA KAZUSHIGE)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



研究の概要 本研究では、自然界に存在する匂い物質で、マウスが鼻の嗅覚受容体で認識するリガンドの同定を目的としています。効率のよい嗅覚受容体のアッセイ系を確立し、嗅覚受容体ナチュラルリガンドとして、包皮腺から Z5-14:OH の精製・構造決定に成功しました。Z5-14:OH は脂質代謝物で、雄の尿から発せられ、雌に対して誘引活性をもつ新規の物質です。マウスの個体間コミュニケーションに関して新しい知見を提供しました。

研究分野：生物学

キーワード：嗅覚、匂い物質、受容体、リガンド、生理活性物質

1. 研究開始当初の背景

生物は、生態系の多様かつ複雑な匂い情報のなかから、仲間、敵、異性などの信号を正確に抽出できる能力をもっています。マウスにおいて、匂いは嗅上皮の嗅神経細胞に発現する嗅覚受容体によって感知されます。マウスで嗅覚受容体は約千種類ありますが、そのうち、10%に満たない受容体のリガンドしか見つかっていません。しかも、現在までの研究は、合成香料リガンドとの対応付けがほとんどであり、自然界で生活するマウスが実際に感知している匂い情報と嗅覚受容体と対応付けされた報告はほとんどありません。

一方、嗅覚受容体遺伝子は、脳、精巣、脾臓、舌上皮、発生初期の心臓、筋肉、腎臓など、鼻以外の組織でも発現していることが明らかにされています。なかでも、精巣と筋肉では嗅覚受容体が機能的に発現しており、それぞれ精子の走化性および筋細胞の凝集に関わっていることが示唆されています。しかし、内在性のリガンドを同定した報告は未だありません。

私達はここで、自然界で生活するマウスが嗅上皮に発現する嗅覚受容体で感知する匂い情報、そして生体内で発現する嗅覚受容体の内在性の生理活性物質を総称して「ナチュラルリガンド」と定義することにしました。

2. 研究の目的

本研究では、嗅上皮に発現する嗅覚受容体と鼻以外の生体内組織に発現するマウス嗅覚受容体のナチュラルリガンドを同定する

ことを目的としています。まず、組織や分泌腺の抽出液などクルードなサンプルから受容体リガンドをスクリーニングすることができるアッセイ系を確立します。そして、生体内で生合成され、内分泌的に嗅覚受容体発現組織に作用して機能する、嗅覚受容体の内在性ナチュラルリガンドを同定します。また、外分泌されて個体間コミュニケーションに使われる嗅覚受容体のナチュラルリガンドを明らかにします(図1)。

マウスの社会性行動がどのような化学信号とどの嗅覚受容体の組合せで制御されているかが明らかにし、その相互作用をターゲットとして、マウスの繁殖の制御という応用を目指します。また、嗅上皮以外の組織における嗅覚受容体の機能を明らかにして、嗅覚受容体による生体内分子のセンシングという、新たな生命機能の維持戦略を浮き彫りにします。

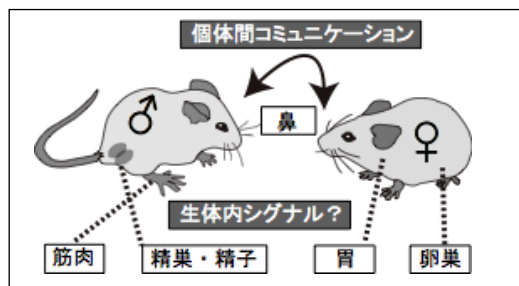


図1 研究の概略

3. 研究の方法

ナチュラルリガンドのスクリーニングを行うマウス嗅覚受容体として、鼻に発現している現在までに合成香料リガンドがわかっている嗅覚受容体6種類、鼻以外の組織で発現することが確認されている嗅覚受容体3種類を対象とします。計画は、1)バックグラウンド応答のない効率の良い嗅覚受容体のアッセイ系の確立、2)各生体内組織や外分泌腺の抽出物に対する嗅覚受容体の応答活性測定、3)ナチュラルリガンドのカラム精製・構造決定、4)同定したナチュラルリガンドの生物学的・生理的機能の解析の順におこないます。この研究戦略に成功した場合、他のオープンファン嗅覚受容体のナチュラルリガンド大規模スクリーニングを行い、嗅覚受容体ナチュラルリガンドの多くを明らかにします。

4. これまでの成果

マウスの個体から発せられる匂い物質の産生源として、尿、涙、唾液などの体液を作る7つの外分泌腺に着目しました。それぞれの外分泌腺に含まれる物質を抽出し、嗅覚受容体のひとつである **Olf288 (Olfactory receptor 288)** を強制発現させたアフリカツメガエル卵母細胞に投与したところ、尿に様々な物質を分泌する外分泌腺である包皮腺の抽出物が電気応答を引き起こしました。この応答活性を指標に包皮腺から活性物質を精製し構造解析を行った結果、**Olf288** のリガンドとして、哺乳類で新規の物質である **(Z)-5-tetradecen-1-ol (Z5-14:OH)** が同定されました。さらに解析を行った結果、**Z5-14:OH** は性ホルモンの制御を受けて雄マウスでのみ包皮腺から尿に分泌されることが分かりました。したがって、**Z5-14:OH** は雄という性の情報をもつ物質であると考えられました。実際に行動実験を行うと、雌マウスは **Z5-14:OH** を含む雄マウスの尿に嗜好性を示すことが明らかになりました。以上のことから、自然界で雌マウスが **Olf288** を使って感じている情報物質、すなわちナチュラルリガンドの一つは、雄の尿から発せられる **Z5-14:OH** であるとわかりました。

本成果が導き出されるためのキーポイントとなったことは、多様な物質の複合物である生体試料から嗅覚受容体のリガンドを探索できる実験方法を確立したことです。その方法を用いて同定した天然のリガンド物質が、どのような生理的意味をもつかを明確にしました。今後、同じアプローチによって、嗅覚受容体だけでなく他の多くの化学感覚受容体についても、ナチュラルリガンドと対応づけることによって、自然条件下での役割が分かってくると期待されます。

Z5-14:OH はその化学構造から脂肪酸の代謝産物であると考えられます。我々ヒトの体臭も様々な脂肪酸代謝産物から構成されて

います。ヒト同士の嗅覚コミュニケーションにも、**Z5-14:OH** やそれに類似する物質が用いられているのかどうかは今後の興味深い課題です。

5. 今後の計画

Olf288 のノックアウトマウスを作製して、**Z5-14:OH** に対する嗜好性が欠失するかどうか調べます。匂いを嗅げているのに嗜好性が失われるとしたら、高次脳における **c-Fos** 解析により、嗜好性に関わる脳部位を同定することができます。

その他の嗅覚受容体のナチュラルリガンドの同定を進め、嗅覚受容体の生理的意義の解明を目指します。特に、哺乳類で保存されている嗅覚受容体に着目して、進化との関連に迫ります。

卵巣や精巣に発現している嗅覚受容体の内在性リガンドの同定を行い、受容体ノックアウトマウスの表現型を参照しつつ、生体内発現嗅覚受容体の機能を明らかにします。

本研究成果は、マウスの社会性行動がどのような匂いとどの嗅覚受容体で制御されているかが明らかになるだけでなく、その化学分子認識をターゲットとして、マウスの繁殖の制御などにもつながる発展性を持つという点で応用性も高いです。

嗅上皮以外の組織における嗅覚受容体の機能を明らかにして、嗅覚受容体による生体内分子のセンシングという、新たな生命機能の維持戦略を浮き彫りにします。Gタンパク質共役型受容体の大半を占める嗅覚受容体は創薬のターゲットとして無視されてきましたが、今後、製薬関係で注目されることが期待されます。動物の社会性行動の理解、化学生態環境の制御、および創薬フィールドの拡大という、脳科学、環境問題、医薬領域への波及効果が見込まれます

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Yoshikawa, K., Nakagawa, H., Mori, N., Watanabe, H., and Touhara, K.*
"Unsaturated aliphatic alcohol as a natural ligand for mouse odorant receptor" **Nature Chem. Biol.** 9, 160-162 (2013)
- 吉川敬一、東原和成 "マウス嗅覚受容体のナチュラルリガンドの同定" **細胞工学** 32, 586-587 (2013)
- 吉川敬一、東原和成 "哺乳類の行動を制御するエコロジカルボラタイルとその受容体の同定法" **アロマリサーチ** 54, 180-184 (2013)

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/biological-chemistry/>