

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：16401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19635

研究課題名(和文)ミトコンドリアペプチドは個体認識の手がかりとなる匂い分子として機能しているか？

研究課題名(英文) Do mitochondrially encoded peptides function as strain identity chemosignals in mice?

研究代表者

椋 秀人(KABA, Hideto)

高知大学・医学部・特任教授

研究者番号：50136371

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で研究代表者は、(1) BALB/c雄との交尾によるBALB/c雌の妊娠が、H-2ハプロタイプが同じで、ミトコンドリアゲノム由来のNADH dehydrogenase 1(ND1)とNADH dehydrogenase 2(ND2)のN末端部ペプチド(9アミノ酸残基)の1アミノ酸残基がBALB/cとは異なるNZB雄によって阻止されること、(2) ホルミル化されたものは無効であるが、脱ホルミル化された非自己のND1ペプチドとND2ペプチドへの曝露が妊娠阻止を起こすこと、(3) 系統の異なる雄のND1ペプチドによる妊娠阻止はこの雄との交尾時に形成される記憶によって起こらなくなることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、嗅覚を介した動物間コミュニケーションの実態解明に大きく寄与すると共に、ミトコンドリアゲノム由来ペプチドが“自己か非自己か”を認識する際の原因となり得ることから、嗅覚系と免疫系との新たなクロストークの場を提供し、MHCによる体臭の違いがヒトの配偶者選択に影響を及ぼすように、ヒトにおける嗅覚コミュニケーションの新たな発見にも繋がり得る。

研究成果の概要(英文)：In this study I demonstrate (1) the pregnancy block effect on BALB/c mice by NZB mice, which differ from H-2d-compatible BALB/c mice by a single amino acid substitution in mitochondrially encoded peptides, i.e., the nine N-terminal amino acids of NADH dehydrogenases 1 and 2, (2) the unfamiliar (non-self) variants of non-formylated, but not N-formylated, ND1 and ND2 peptides induced pregnancy block and (3) the pregnancy block by an unfamiliar peptide derived from a male of a different strain was prevented by a memory formed at the time of mating with the male. These findings suggest that the mitochondrial peptides are naturally released from a mouse and can form part of the suite of cues for the recognition of strain differences. Such mitochondrial peptides that can signal individual information may be of importance in other vertebrate species and behavioral contexts.

研究分野：ブレインサイエンス

キーワード：嗅覚コミュニケーション ミトコンドリア由来ペプチド ブルース効果 個体認識 鋤鼻系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多くの哺乳動物の社会行動は、嗅覚系による個体の認識・記憶学習が基盤となっている。雄マウスの尿中フェロモンには元来、雌の鋤鼻系（主要な嗅覚系の1つ）を刺激して血中プロゲステロン濃度を低下させて発情をもたらず作用がある。雌マウスが交尾時に交配雄のフェロモンを記憶すると、その後はこのフェロモンによる発情（流産）が起こらなくなり、妊娠は保障される。

このフェロモン記憶は、フェロモンシグナルと交尾刺激により活性化されたノルアドレナリン作動性シグナルが鋤鼻系の最初の中継部位である副嗅球で連合することにより、種々の情報分子が関わり、副嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプスに生じるシナプスの可塑的变化によって支えられていることを我々は明らかにした。また、鋤鼻系の神経回路形成機構や機能発現制御機構を解析するための *in vitro* 再構成系を確立し、この共培養による鋤鼻ニューロンの成熟と鋤鼻受容体の誘導、副嗅球ニューロンとの間の機能的なシナプス形成の過程を捉えた。

一方、マウスの鋤鼻器で受容され、個体認識に関わることが示唆されている匂い（化学シグナル分子）には MHC ペプチド、MUP (Major Urinary Protein)、ESP (Exocrine-gland Secreting Peptide) などがあるが、これらだけではマウスの個体認識行動を十分には説明できない。

2. 研究の目的

そこで研究代表者は、個体認識に役割を果たし得る新規の化学シグナルとしてミトコンドリアゲノムによってコードされた呼吸鎖酵素に着目した。その理由は、図 1 のように、NADH dehydrogenase 1 (ND1) および NADH dehydrogenase 2 (ND2) の N 末端部のアミノ酸配列（9 残基からなるペプチド）がマウスの系統間で異なるからである。本研究では、これらのペプチドが体外に分泌され個体認識の手がかりとなる匂い分子として機能しているとの仮説を設定し、これを行動解析によって検証する。本研究により、個体認識に関わる新規の匂い分子が明らかとなり、引いてはヒトや他の脊椎動物における嗅覚コミュニケーションの新たな発見にも繋がりが得る。

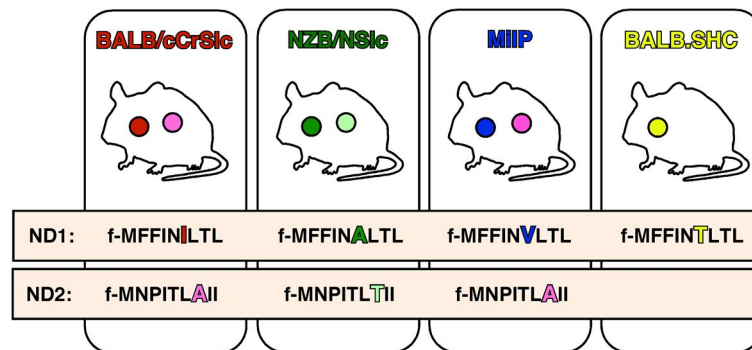


図 1 ミトコンドリアゲノム由来ペプチドの遺伝子多型

これらのペプチドはミトコンドリアゲノムによってコードされているため、N 末端のメチオニンがホルミル化されている。ND1-6A : N 末端から 6 番目のアミノ酸残基がアラニンであることを示す。

3. 研究の方法

提唱した仮説を検証するために、ブルース効果として知られている系統選択的妊娠阻止効果を用いる。雌マウスが交尾 1 日後から 2 日間、他系統の雄に曝露されると、妊娠が阻止される。この妊娠阻止は、発見者の名にちなんでブルース効果と呼ばれ、雄の尿に含まれる化学シグナル（フェロモン）が鋤鼻系を活性化することによって誘起される。交配雄もまた同様のフェロモンを尿にもつが、交配雄がもたらした妊娠を阻止しない。これは、雌が交尾直後から約 4 時間の感受性期に、交配雄の尿中フェロモンを記憶するからである。

4. 研究成果

(1) ND1 ペプチドおよび ND2 ペプチドのアミノ酸配列が異なる BALB/c マウスと NZB マウスとの間にブルース効果が惹起される

BALB/c マウスは H-2^d ハプロタイプを有するのに対し、C57/BL6 マウスは H-2^b ハプロタイプを有する。このように H-2 ハプロタイプが異なる系統間でブルース効果が起こることが判明している。そこで、H-2 ハプロタイプが同じで、ND1 ペプチドと ND2 ペプチドのアミノ酸配列が異なる BALB/c マウスと NZB マウスとの間でブルース効果が惹起されるか否かを検討した。BALB/c 雌マウスを BALB/c 雄と交尾させ、翌日から 2 日間 NZB 雄に曝露させたところ、有意に高い妊娠阻止率が得られた。この効果は NZB 雄の尿でも、さらには NZB 雌の尿でも再現された。本研究結果は、ND1 ペプチドと ND2 ペプチドがブルース効果の匂い分子手がかりとなり得ることを示唆している。

(2) 脱ホルミル化された ND1 ペプチドと ND2 ペプチドへの曝露によりブルース効果が惹起される

BALB/c 雌マウスを BALB/c 雄と交尾させ、翌日から 2 日間の間に 8 回ペプチド溶液 (50 μ M) を口鼻溝に滴下してペプチドへの曝露を行った。すると、6 種類のホルミル化されたペプチド (ND1-6I、ND1-6A、ND1-6V、ND1-6T、ND2-7A、ND2-7T) はどれもブルース効果を起こさなかったが、脱ホルミル化されたペプチドのうち非自己のペプチドは程度を異にしてブルース効果を惹起した。特に ND1-6A と ND2-7T によって有意に高い妊娠阻止率が得られた。ND1-6A の効果には濃度依存性が確認された。また、ND1-6A の効果は、すでにブルース効果を持つことが示されている MHC ペプチド AAPDNRETF と同程度の強さであった。ND1-6A のアミノ酸配列をランダムに並び替えたスクランブルペプチドは無効であった。本研究結果は、(1) の成果を一步掘り下げ、ND1 ペプチドと ND2 ペプチドがブルース効果の匂い分子手がかりとなっているとの仮説を強く支持するとともに、単一アミノ酸残基の違いが鋤鼻系で明確に識別されることを示している。

(3) 雌マウスは交尾のときに交尾相手のミトコンドリアペプチドの記憶を形成する

ミトコンドリアペプチドが尿などを介して体外に分泌されているか否か、もしミトコンドリアペプチドが尿などに自然に分泌されていれば、BALB/c の雌は NZB の雄との交尾のときに NZB のペプチドを嗅いで記憶し、そのペプチドを familiar なものと認識することで NZB のペプチド (ND1-6A) に反応しなくなるはずである。この点を行動実験で実証するため、BALB/c 雌マウスを NZB 雄と交尾させ、翌日から 2 日間の間に 8 回 ND1-6A (50 μ M) を口鼻溝に滴下してペプチドへの曝露を行ったところ、ND1-6A はもはや妊娠阻止を惹起しなかった。この結果は、BALB/c の雌は NZB の雄との交尾のときに NZB の ND1-6A を嗅いで記憶し、そのペプチドを familiar なものと認識していたことを示唆している。

3 年間の研究で、ミトコンドリアゲノム由来の ND1 ペプチドと ND2 ペプチドが体外に分泌され個体認識の手がかりとなる匂い分子として機能していることが明らかとなった。本研究により、個体認識に関わる新規の匂い分子が明らかとなり、引いては他の脊椎動物や他の行動文脈における嗅覚コミュニケーションの新たな発見にも繋がることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yano Y, Murata Y, Taniguchi M, Okutani F, Yamaguchi M, Kaba H.	4. 巻 2019
2. 論文標題 Olfactory stimulation with Japanese soy sauce improves upper limb performance.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Occupational Therapy International	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2019/2748721	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yasaka K, Mori T, Yamaguchi M, Kaba H.	4. 巻 20
2. 論文標題 Representations of microgeometric tactile information during object recognition.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cognitive Processing	6. 最初と最後の頁 19-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10339-018-0892-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Huang GZ, Taniguchi M, Zhou YB, Zhang JJ, Okutani F, Murata Y, Yamaguchi M, Kaba H.	4. 巻 25
2. 論文標題 2-Adrenergic receptor activation promotes long-term potentiation at excitatory synapses in the mouse accessory olfactory bulb.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Learning & Memory	6. 最初と最後の頁 147-157
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/lm.046391.117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kaibe S, Okita M, Kaba H.	4. 巻 41
2. 論文標題 Perception of active head rotation in patients with severe left unilateral spatial neglect.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 41-45
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jocn.2017.01.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okita M, Yukihiro T, Miyamoto K, Morioka S, Kaba H.	4. 巻 113
2. 論文標題 Defective imitation of finger configurations in patients with damage in the right or left hemispheres: An integration disorder of visual and somatosensory information?	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain and Cognition	6. 最初と最後の頁 109-116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bandc.2017.01.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Taniguchi M, Murata Y, Yamaguchi M, Kaba H
2. 発表標題 A role for vasopressin in dendrodendritic inhibition in the mouse accessory olfactory bulb: effects on the mitral cell responses to GABA.
3. 学会等名 日本味と匂学会第52回大会 (埼玉県・さいたま市)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Taniguchi M, Murata Y, Yamaguchi M, Kaba H
2. 発表標題 A mechanism of action of vasopressin V1a receptors on the recurrent inhibition between mitral cells and granule cells in the mouse accessory olfactory bulb
3. 学会等名 第95回日本生理学会 (香川県・高松市)
4. 発表年 2018年

〔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