

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06379

研究課題名(和文)カメの性フェロモン受容システムに関する研究

研究課題名(英文)A study on the sensory system for chelonian sex pheromones

研究代表者

中牟田 信明 (NAKAMUTA, NOBUAKI)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：00305822

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類の嗅覚器は嗅上皮と鋤鼻器からなり、嗅上皮には匂い受容体、鋤鼻器には鋤鼻受容体と呼ばれる嗅覚受容体が発現している。また、嗅上皮と鋤鼻器にはそれぞれ樹状突起の先端に線毛をもつ嗅細胞(線毛性嗅細胞)と微絨毛をもつ嗅細胞(微絨毛性嗅細胞)が分布している。カメの嗅覚器は上憩室上皮と下憩室上皮からなり、一般に上憩室上皮には線毛性嗅細胞、下憩室上皮には微絨毛性嗅細胞が分布しているが、どの嗅覚受容体が発現しているかは不明だった。本研究ではカメの嗅覚器における嗅覚受容体遺伝子の発現を解析し、線毛性嗅細胞と微絨毛性嗅細胞の両方に匂い受容体が発現してい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

脊椎動物の嗅覚器では一般に、線毛性嗅細胞は匂い受容体、微絨毛性嗅細胞は鋤鼻受容体を発現することが知られている。しかし、これまでに知られているどの動物とも異なり、カメの嗅覚器では、微絨毛性嗅細胞が分布する下憩室上皮でも大部分の嗅細胞が匂い受容体を発現しており、嗅細胞の微細形態学的特徴に基づいて鋤鼻器と見なされる下憩室上皮は、嗅覚受容体の発現に関しては嗅上皮と見なされることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The olfactory organ of mammals consists of the olfactory epithelium and the vomeronasal organ. The olfactory epithelium and the vomeronasal organ express odorant receptors and vomeronasal receptors, respectively. In addition, the olfactory epithelium and vomeronasal organ contain olfactory receptor neurons bearing cilia and microvilli at the tip of their dendrites, respectively. Meanwhile, the olfactory organ of turtle consists of the upper chamber epithelium and lower chamber epithelium. In general, the upper and lower chamber epithelia contain ciliated and microvillous olfactory receptor neurons, respectively. Present study addressed the expression of olfactory receptors in the olfactory organ of turtle and demonstrated that vomeronasal receptors were expressed only by a small proportion of olfactory receptor neurons, indicating that odorant receptors were expressed by the majority of ciliated and microvillous olfactory receptor neurons.

研究分野：獣医解剖学

キーワード：嗅覚

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

フェロモンとは一般に体内で産生され、体外に分泌された後、同種他個体に一定の変化をもたらす物質を指す。繁殖期のカメでは、オスが求愛行動に先立って他個体の排泄腔付近に鼻を近づけ、おそらく糞や尿に含まれる物質から相手の性別や、さらには繁殖可能な状態かといった情報を得ていると考えられる。このように、フェロモンは様々な動物において個体間コミュニケーションを支える重要な要素の1つとなっているが、爬虫類のフェロモンを分子レベルで同定した報告はまだない。

2. 研究の目的

本研究では、カメのフェロモン受容システムの解明を目的として、カメの嗅覚器におけるフェロモン受容体候補遺伝子の発現を解析し、周年変化や成長に伴う変化を明らかにする。さらに、カメの嗅覚器における性ホルモン受容体遺伝子の発現を解析することによって、嗅覚受容体遺伝子の発現制御に関与する性ホルモンの同定を試みる。それによって、カメにおける個体間コミュニケーションの分子基盤となる性フェロモン受容システムの解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 嗅覚器組織から抽出した RNA をもとに cDNA を合成し、遺伝子特異的プライマーを用いた PCR によって、各遺伝子が嗅覚器に発現しているかを確認した。

(2) *in situ* ハイブリダイゼーションは、PCR クローニングによって調製したジゴキシゲニン標識の RNA プローブと、パラホルムアルデヒド固定した嗅覚器組織の凍結切片を用いて行った。それぞれの遺伝子について、検出されたシグナルの密度と、嗅覚器における3次元的な分布を解析した。

4. 研究成果

(1) 【カメにおける嗅覚受容は鋤鼻受容体よりむしろ匂い受容体を介して行われる】カメの嗅覚器において鋤鼻受容体はごく一部の嗅細胞に発現していることが本研究で示された。鋤鼻受容体のシグナル伝達に関わるイオンチャネル TRPC2 をコードする遺伝子は鋤鼻受容体と同じように発現しており、おそらく未知の鋤鼻受容体はカメには存在しないことが示唆された(図1)。

一方で、匂い受容体のシグナル伝達に関わるイオンチャネル CNGA2 をコードする遺伝子は、上憩室上皮と下憩室上皮の両方で大部分の嗅細胞に発現しており、カメの嗅覚器においてほとんどの嗅細胞は匂い受容体を発現していることが示唆された(図2)。

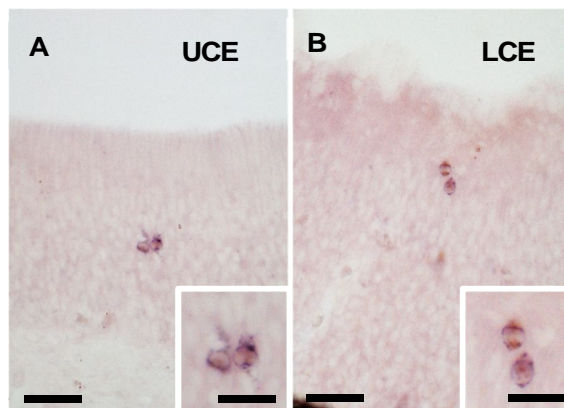


図1 アカミミガメ嗅覚器における TRPC2 遺伝子の発現

(2) 【嗅細胞の微細形態学的特徴と嗅覚受容体発現との関係はカメと他の脊椎動物との間で異なっている】嗅細胞の微細形態学的特徴と嗅覚受容体遺伝子の発現とは、密接な関係にあることが魚類から哺乳類まで様々な動物の嗅覚器において示されている。しかし、本研究の結果は微絨毛性嗅細胞が分布する下憩室上皮においても鋤鼻受容体遺伝子はごく一部の嗅細胞にしか発現しないことを示している。さらに、CNGA2 をコードする遺伝子の発現は、下憩室上皮の大部分の嗅細胞に匂い受容体が発現することを示唆している。従って、魚類から哺乳類まで保存された嗅細胞の微細形態学的特徴と嗅覚受容体遺伝子発現との関係が、これまで知られている中では唯一、カメには当てはまらないことが明らかになった。

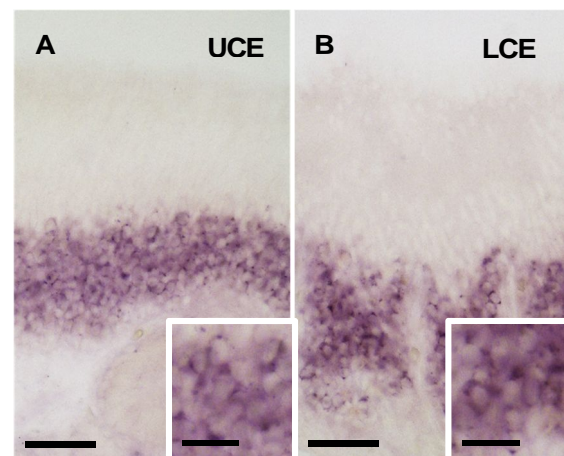


図2 アカミミガメ嗅覚器における CNGA2 遺伝子の発現

(3) 【V2R はおそらく不揮発性物質を受容することに関わっている】哺乳類では V2R を介して不

揮発性物質の受容が行われている。カメは陸上と水中の両方で匂いを受容することが知られており、付属腺の有無等に基づいて、上憩室上皮では空気中の匂い、下憩室上皮では水中の匂いを受容すると考えられている。従って、本研究で主に下憩室上皮で発現することが示された V2R は、カメにおいても揮発性物質の受容に関わっている可能性が高い。

(4)【V1R を介して揮発性物質を受容する機能が水生傾向の強いカメでは失われている】アカミミガメとスッポンの両方に存在する V1R 遺伝子が嗅覚器には発現しないことが RT-PCR 解析によって示された。一方、アカミミガメにしか存在しない V1R 遺伝子は、上憩室上皮と下憩室上皮の両方に発現していた(図3)。このことは、アカミミガメのように半水生のカメでは V1R を介した化学受容が重要な役割を果たしているのに対し、スッポンのように水生傾向の強いカメではそうでないことを示唆している。V1R は様々な証拠から揮発性物質の受容に関与することが示唆されているが、水生傾向の強いカメでは V1R を介した化学受容が二次的に失われたと推測できる。

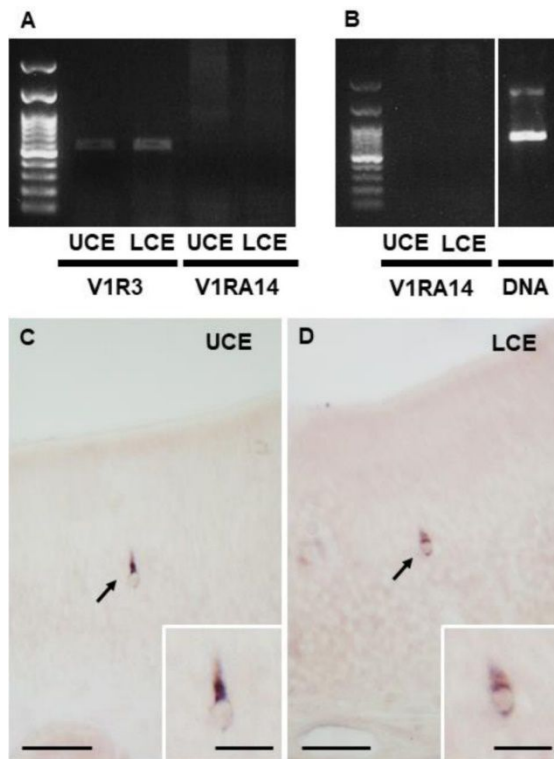


図3 アカミミガメ嗅覚器における V1R 遺伝子の発現

(5)【カメの嗅覚器における鋤鼻受容体発現の性差や季節変化については引き続き詳細な検討を必要とする】鋤鼻受容体の発現は幾つかの脊椎動物で性的二型を示す。本研究でもカメの嗅覚器における鋤鼻受容体発現に、性差や季節変化のあることを示唆する結果を得たが、途中、相次いだ冷凍庫の故障が原因でサンプル等を廃棄したため、十分な解析を行えていない。性ホルモン受容体の発現解析についても同様で、現在のところ明確な結論を得るには至っていない。

<引用文献>

Abdali SS, Nakamuta S, Yamamoto Y, and Nakamuta N. (2020) Distribution of cells expressing vomeronasal receptors in the olfactory organ of turtles. The Journal of Veterinary Medical Science 82:1068-1079

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Abdali, S. S., Nakamuta, S., Yamamoto, Y. and Nakamuta, N.	4. 巻 82
2. 論文標題 Distribution of cells expressing vomeronasal receptors in the olfactory organ of turtles.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1068 ~ 1079
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1292/jvms.20-0207	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 中牟田信明、中牟田祥子、アブダリ・サイドシャリフ、長江杏介、谷口真理、加藤英明、山本欣郎
2. 発表標題 カメ嗅覚器における性ホルモン受容体の発現解析
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sayed Sharif Abdali、中牟田祥子、長江杏介、山本欣朗、中牟田信明
2. 発表標題 カメの嗅覚器におけるTRPC2発現細胞の局在
3. 学会等名 日本解剖学会第65回東北・北海道連合支部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Abdali, S.S., Nakamuta, S., Nagae, K. Yamamoto, Y. and Nakamuta, N.
2. 発表標題 Distribution of cells expressing vomeronasal receptors in the olfactory organ of turtle
3. 学会等名 International Symposium on "Environmental Response Mechanisms in Plants and Animals"（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Abdali, S.S., Nakamuta, S., Yamamoto, Y. and Nakamuta, N.
2. 発表標題 Localization of V1R-expressing olfactory receptor neurons in the olfactory organ of turtles.
3. 学会等名 The 2nd Joint Meeting of Veterinary Science in East Asia (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中牟田信明
2. 発表標題 カメの鼻：脊椎動物嗅覚器の比較解剖学
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019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

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