

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 角田 麻衣

---

マウスなど齧歯類の鼻腔下部には、鋤鼻器官とよばれる円筒状の組織が存在し、フェロモンを含む本能行動の誘起に関わる物質を受容していると考えられている。近年、涙液のなかに、ESP1 ペプチドなど、鋤鼻器官を活性化して同種内での個体間コミュニケーションを制御するフェロモン分子が分泌されていることが見出された。本研究では、捕食者-被捕食者の関係にあるラットとマウスに着目し、涙液から異種のシグナルとなる鋤鼻活性物質を同定すること、さらにその生理的機能を解明することを目指したものである

第一章の序論と第二章の実験項にひきつづき、第三章では結果、第四章では考察が述べられている。

第三章の1節では、涙液に含まれるマウス鋤鼻活性物質について解析した。まず、ラットの涙液に、マウスの鋤鼻器官で受容される物質が含まれているかどうかを調べるために、雄ラットの涙液を染み込ませたコットンでマウスを刺激したところ、マウスの鋤鼻神経の投射先である副嗅球の僧帽・房飾細胞層の主に尾側で c-Fos 発現誘導細胞が観察された。ラット以外の様々な生物種の涙液も検証したところ、イヌ、ネコ、ウマ、ヤギの涙液で刺激したマウスにおいて、c-Fos 発現誘導が観察された。ラットを初めとする様々な生物種の涙液には、マウスの鋤鼻器官で受容される物質が含まれていることが示唆された。

第三章の2節では、ラット涙液に含まれるマウス鋤鼻活性物質として、ラットの ESP ファミリーを検討した。ラットゲノム上に存在する 10 個の ESP ファミリー遺伝子の涙腺における発現解析の結果、ratESP5、ratESP7 が雌ラットの涙液に分泌されていることが明らかになった。ratESP5、ratESP7 は雄ラットの副嗅球を活性化したのに対して、マウスの副嗅球では応答は観察されなかった。すなわち、ratESP5、ratESP7 は、ラット種内においては性の情報を持つ鋤鼻活性物質として機能している可能性はあるが、ラットの涙液に含まれるマウス鋤鼻活性物質は、ESP 以外の物質であることが示唆された。

第三章の3節では、ラット涙液に含まれるマウス鋤鼻活性物質の同定が述べられている。ラットの涙液を HPLC に供して分画し、それぞれの画分を染み込ませたコットンでマウスを刺激して、副嗅球での c-Fos 発現の有無を観察することにより、鋤鼻活性物質の精製を行った。精製した活性画分を N 末端ペプチドシーケンスに供すると、得られたアミノ酸配列は cystatin-related protein 1 (ratCRP1) の配列と一致した。ラットゲノム上には ratCRP1 と相同な遺伝子が 18 種存在すること、さらにこれらの遺伝子は、全てシスタチンファミリー遺伝子に属していることが明らかになった。ratCRP1 遺伝子は、涙液をつくる外分泌腺のうち眼窩外涙腺で発現しており、ウェスタンブロット法による解析の結果、ratCRP1 は雄ラットの涙液、唾液、尿のうち、涙液に特異的に分泌されることが明らかになった。ratCRP1 をマウスに与えたところ、副嗅球の尾側で c-Fos 発現誘導が観察された。一方で、鋤鼻神経細胞の鋤鼻受容体を介したシグナル伝達経路に必要なイオンチャネルである TRPC2 遺伝子を

欠損させたマウスを ratCRP1 で刺激したときには、c-Fos 発現誘導が観察されなかった。これらの結果から、ratCRP1 は雄ラットの涙液に分泌され、鋤鼻受容体を介してマウスの鋤鼻神経を活性化する物質であることが明らかになった。

第三章の4節では、ratCRP1 のマウスに対する生理的効果についての検討がなされている。ratCRP1 刺激による高次脳での c-Fos 発現誘導を観察したところ、視床下部腹内側核の背内側部で c-Fos 発現細胞数の有意な上昇が確認された。ratCRP1 刺激をしたマウスの血中コルチコステロン量を測定したところ、血中コルチコステロン量が有意に上昇することが示された。ratCRP1 はマウスの巣作り行動に影響を与えなかったことから、マウスは ratCRP1 を忌避していないことが示唆された。ratCRP1 刺激による自律神経系の変化を測定したところ、ratCRP1 を与えたマウスで、体温、心拍数、活動量の低下が引き起こされることが明らかになった。

本研究では、ラットの涙液に含まれる新規マウス鋤鼻活性物質として ratCRP1 を同定した。涙液から、異種個体の鋤鼻神経を活性化させる物質を同定したのは、本研究が初めてであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。