

## 論文内容の要旨

獣医学専攻

平成14年度博士課程 入学

氏名 清川 泰志

指導教員名 森 裕司

論文題目 フェロモンを介した情動伝達機構に関する研究

情動と称される恐怖、驚き、怒り、悲しみや喜びといった感情の動きは通常きわめて主観的な経験であるため、外部より正確に窺い知ることは困難である。動物の心的状態は、例えばその動物の姿勢や表情、音やにおいといった、その動物が発する様々な信号に反映されるが、嗅覚が発達した動物種ではフェロモンを含む嗅覚信号が主に用いられている。たとえば危機状況においてラットは特異的な嗅覚信号を放出することが知られているが、この嗅覚信号は、受容した同種他個体に特異的な反応を引き起こす物質であるため、警報フェロモンと定義されている。警報フェロモンに暴露されたラットは様々な反応を示し、そのなかには、Freezing、Walking、Sniffing の増加および Resting の減少といった行動反応と、Stress-induced hyperthermia (SIH) の増強といった自律機能反応が含まれることを近年当研究室にて明らかとした。

本研究は、ラットが警報フェロモンを介して情動を他個体に伝達する機構を解明することを目的としたものであり、上記の行動反応および自律機能反応を生物検定指標として用いることで、警報フェロモンをテストステロンへの依存性により2種類に分類し、それぞれの放出部位を特定するとともに、フェロモンを水中に捕捉する方法について検討したものである。本論文は以下の様に7章から構成されている。

第1章は総合緒言であり、フェロモンの定義及びその分類に関する先行研究を概観した上で警報フェロモン研究の背景について解説し、本論文の目的を述べた。

第2章では、警報フェロモンを放出するドナーラットにおけるテストステロンの役割を検討した。無処置雄ラット、去勢雄ラットおよび去勢した後にプロピオン酸テストステロンを皮下移植したラットという3種類のドナーを準備し、それぞれのドナーを実験箱に導入し foot shock を負荷することで警報フェロモンを放出させた。その後、それぞれの箱にレシピエントを導入し行動反応及び自律機能反応を生物指標として観察することで、3種類のドナーのフェロモン放出能力を評価した。レシピエントに自律機能反応を引き起こすフェロモンを放出する能力はテストステロンの有無に影響を受けない一方で、行動反応を引き起こすフェロモンを放出する能力は去勢により著しく減少し、テストステロン処置により完全に回復した。以上の結果より、雄ラットが放出する警報フェロモンは、その放出のテストステロン依存性によって2つのカテゴリーに分類できることが示唆された。

第3章では、警報フェロモン放出の部位を検討するとともに、“警報フェロモンが2つのカテゴリーに分類できる”という前章で立てた仮説について検証した。実験箱内にて麻酔したドナーの頬部、頸部、腰部もしくは肛門周囲部に対して局部電気刺激を行うことで部位特異的なおいを放出させ、その後実験箱に導入されたレシピエントの行動反応および自律機能反応を観察することで、それぞれの部位より放出されたにのフェロモン活性を判定した。肛門周囲部への電気刺激に伴って放出されたにのフェロモン活性はレシピエントに SIH の増強を引き起こし、一方、頬部への電気刺激に伴って放出されたにのフェロモン活性はレシピエントに行動反応を引き起こすことが明らかとなった。以上の結果より、第2章で立てた仮説通り、雄ラットが放出する警報フェロモンは2種類に分類することができ、レシピエントに行動反応を引き起こすものはドナーの頬部より、自律機能反応を引き起こすものはドナーの肛門周囲部より、それぞれ放出されることが示唆された。

第4章では、ドナーの肛門周囲部より放出される警報フェロモンに着目し、その受容に関わる脳内領域の解析を行った。実験箱内にて麻酔したドナーの頸部あるいは肛門周囲部を局部電気刺激することにより、頸部由来のにおい及び警報フェロモンの放出をそれぞれ促した箱を作成した。その後、それぞれの箱にレシピエントを導入することで対照臭もしくは警報フェロモンに60分間暴露し、脳内の26領域における Fos 蛋白質の発現を観察した。その結果、分界条床核吻側部内側および外側、視床下部室傍核、視床下部背内側核、扁桃体内側核吻側部背側、

扁桃体外側核、扁桃体外側基底核、中脳水道周囲灰白質外腹側部、手綱核背外側核および青斑核において、警報フェロモン暴露による Fos 蛋白質発現の増加が観察された。以上の結果より、警報フェロモン受容には、扁桃体、視床下部および脳幹といった、ストレス反応に関わる領域が関与していることが示唆された。

第5章では、“警報フェロモンは水溶性の物質である”という仮説を立て、これを検討した。前章までの実験箱とは異なる小さな箱を用意し、麻酔したドナーの頸部あるいは肛門周囲部を局部電気刺激することにより、頸部由来のにおい及び警報フェロモンの放出をそれぞれ促した。その後、それぞれの天井より水滴を回収することで、中にドナーを導入しない対照箱からのサンプルと合わせて計3種類の水サンプルを用意した。それぞれの水サンプルを Home cage 内にて濾紙に染み込ませてレシピエントに提示し、その後の行動反応、自律機能反応および嗅球における Fos 蛋白質の発現を観察することで、各サンプルのフェロモン活性を評価した。その結果、警報フェロモンを放出させた箱から回収した水サンプルを提示すると、レシピエントは SIH の増強を示すとともに副嗅球における Fos 蛋白質発現の増加を示した。この様に、前章までに観察された反応を、警報フェロモンを放出させた箱から回収した水サンプルを提示することにより再現できたことから、警報フェロモンは水溶性であり、水をフェロモン吸着剤として使用可能であることが示唆された。

第6章では、“警報フェロモンは警報の意味を持ち、フェロモン暴露による自律機能反応はレシピエントの不安が上昇した結果である”という仮説を立て、これを検証した。前章までの実験で、警報フェロモンに暴露されたレシピエントは SIH の増強を示したが、この反応は警報フェロモンが不安を惹起した結果であると解釈される。しかし一方で、このフェロモンは特に警報の意味を持たず、単に受容個体の体温を上昇させるフェロモンであるという可能性も否定できない。そこで、前章で作成した警報フェロモン含有水を、より詳細な行動学的解析が可能である変形オープンフィールドにおいてレシピエントに暴露することで、上記の仮説を検討した。第5章の方法で作成した警報フェロモン含有水もしくは溶媒対象水を濾紙に染み込ませて提示し、“Hiding box”設置後の行動反応を観察した。警報フェロモン暴露により、防御行動や危険評価行動が増加する一方で、探索行動および Grooming が減少することが明らかとなった。以上の結果より、このフェロモンが警報の意味を持ち不安の上昇を引き起こすことが示された。

第7章では総合考察を行った。本研究により、雄ラットが foot shock を受けたことにより放出する警報フェロモンは2種類のカテゴリーに分類され、1つは頬部よりテストステロン依存性に放出されてレシピエントに行動反応を引き起こし、もう1つは肛門周囲部よりテストス

テロン非依存性に放出されてレシピエントに自律機能反応を引き起こすものであることが明らかとなった。また、後者のフェロモンは水中に捕捉することが可能であり、レシピエントの不安を惹起する作用を持つことが示唆された。

本研究の結果より、警報フェロモンはモジュレーターフェロモンとしての機能を持つことが示唆された。濾紙に滴下した警報フェロモン含有水という同一の刺激によって、SIH の増強および防御行動と危険評価行動の増加といった、2 つの異なる不安関連反応を引き起こしたことを勘案すると、このフェロモンの第一義的な作用はおそらく不安の惹起であり、その結果としてレシピエントは状況に応じた反応を示すことが予想される。しかしながら本研究の結果のみからは、警報フェロモン暴露により引き起こされた 2 つの反応が不安の上昇によって引き起こされたのかは断定できないため、例えば抗不安薬を用いた薬理学的研究という様な、さらなる研究が今後必要であると考えられる。

警報フェロモン暴露されたラットでは副嗅球を含む鋤鼻系の神経核における Fos 蛋白質発現が増加したことより、フェロモン受容における鋤鼻系の関与が示唆された。しかしながら、Fos 蛋白質の発現という結果は間接的な証拠でしかないことから、警報フェロモンが主嗅覚系もしくは鋤鼻系のいずれの嗅覚系で受容されているかは未だ不明である。そのため、今後の研究として鋤鼻系を破壊した動物へのフェロモン暴露といった、より直接的な研究が必要であると考えられる。また、フェロモン受容系に加え、警報フェロモン分子がどのような物質であり、どのような経路により合成され、また体表のどのような分泌器官や細胞から分泌されるのかという様な、フェロモンの合成、放出経路に関する問題も課題として残されている。今後、哺乳類におけるフェロモンを介した情動伝達機構の全容について理解を深めるためには、上記のような課題を解決していくことが重要と考えられる。