

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者指名 清川 泰志

情動の変化は、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ことが知られている。嗅覚が発達した動物種ではフェロモンを含むにおいが主たる信号として用いられており、たとえば危機状況においてラットは警報フェロモンを放出することが示唆されていた。本研究は、ラットが foot shock を負荷された時に放出する警報フェロモンを研究モデルとし、フェロモンに暴露されたレシピエントが示す自律機能反応及び行動反応を生物検定の指標に用いることで、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る。本論文は7章から構成されており、第1章で警報フェロモン研究の背景と本論文の目的が論じられた後、第2章から第6章では本研究で実施された各実験について記述され、最後の第7章では本研究で得られた成果をもとに総合的な考察が行われている。

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が検討された。無処置雄ラット、去勢雄ラットおよび去勢した後にテストステロン処置したラットという3種類のドナーを準備し、そのフェロモン放出能が評価された。レシピエントに自律機能反応を引き起こすフェロモンの放出能はテストステロンの有無に影響を受けないが、その一方で、行動反応を引き起こすフェロモンの放出能は去勢により著しく減少し、またテストステロン処置により完全に回復した。この結果より、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と作用によって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が検討されるとともに、前章で立てられた仮説について検証が行われた。麻酔したドナーの頬部、頸部、腰部もしくは肛門周囲部への局部電気刺激に伴って放出される物質について、それぞれのフェロモン活性が評価された。肛門周囲部由来のにおいはレシピエントに自律機能反応を引き起こし、一方、頬部由来のにおい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。この結果より、雄ラットが放出する警報フェロモンは2種類に分類されることが明らかとなり、レシピエントに行動反応を引き起こすフェロモンはドナーの頬部より、また自律機能反応を引き起こすフェロモン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、レシピエン

トの脳内 26 領域における Fos 蛋白質の発現を解析することで、フェロモン受容に関わる脳内部位の特定が行なわれた。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。この結果より、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脳内領域が関与していることが示唆された。

第 5 章では、これまでの結果に基づいた“警報フェロモンは水溶性の物質である”という仮説について検証が行われた。小さな箱の中に麻酔したドナーを導入し、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後、それぞれの天井より水滴を回収することで溶媒対照と合わせて計 3 種類の水サンプルを用意し、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、レスピエントは自律機能反応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、“肛門周囲より放出される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スピエントの不安が上昇した結果である”という仮説が検証された。変形オープンフィールドにおいて、第 5 章の方法で作製したフェロモン含有水もしくは溶媒対照水を提示し、レスピエントの行動反応を観察した。その結果、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。この結果より、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。

以上、本研究ではまず、ラットの警報フェロモンについて自律神経系の反応と行動反応を指標とした生物検定系が確立され、これを用いて警報フェロモンの産生部位とホルモン依存性が明らかにされ、また中枢作用に関わる神経核が同定されるとともに、フェロモン分子が水溶性であることが見出された。こうした研究の成果は、哺乳類におけるフェロモンを介する情報伝達機構の全容を理解することにつながると期待され、学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は申請者に対し博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。