

[別紙2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 北郷 潤

論文題目： 雄効果フェロモンの産生機構に関する研究

哺乳類フェロモンはその作用機序から、受容した個体にただちに特定の行動を引き起こすリリースフェロモンと、受容個体の神経内分泌系に作用して長期的な生理作用をもたらすプライマーフェロモンの、主に2つのカテゴリーに分類される。反芻動物のヤギやヒツジで“雄効果”として知られている雄由来のフェロモンによる雌の性腺機能の促進作用は、プライマーフェロモンによってもたらされる代表的な生理現象の一つである。このフェロモンが雄の皮膚においてアンドロジェン依存性に産生・分泌されることは知られているが産生機序は不明である。本研究では、雄効果フェロモンの合成経路についての検討が行われた。本論文は5章から構成され、第1章は総合緒言であり、第2章から第4章が実験の説明、そして第5章は総合考察である。

第2章では、雄効果フェロモンの合成経路を解明するための第1段階として合成に関与する遺伝子群の探索が行われた。雄効果フェロモンはシバヤギの皮膚においてアンドロジェン依存性に産生されることから、去勢雄シバヤギにテストステロン (T) を持続投与する処置を行った前後における頭頸部皮膚、およびTよりも生理活性の高いアンドロジェンであるジヒドロテストステロン (DHT) 処置前後の臀部皮膚で、それぞれ発現が大きく変化する遺伝子群をサブトラクション法により検出することで、フェロモン合成酵素遺伝子候補が同定された。さらに、第三の実験モデルとして卵巣摘出雌に DHT 投与する系を用いて Real-time PCR 法によりフェロモン合成に関与する可能性の高い遺伝子の絞り込みが行われた。また並行してマイクロアレイ法により DHT 処置前後の去勢雄シバヤギの頭部皮膚で発現する遺伝子が網羅的に解析され、アンドロジェン処置に伴い

発現を変化させる遺伝子のライブラリーが作製された。これらの解析の結果、*long-chain fatty acid elongase, family member 5 (ELOVL5)* および *stearoyl-CoA desaturase (SCD)* の2つの既知遺伝子、および1つの未知配列 gH325 が候補遺伝子群として同定された。皮膚における *ELOVL5*、*SCD* および gH325 の発現部位が *in situ* hybridization により検討され、3 遺伝子とも共通して、生物検定でフェロモン活性を有することが判明している頭頸部皮膚の皮脂腺細胞において強い発現シグナルを示す、という結果が得られた。

第3章では、雄効果フェロモンの産生組織と推測される皮脂腺の組織培養方法について検討が行われ、Epidermal growth factor により増殖が促進され、Insulin (INS) を処置すると細胞増殖能および脂質産生能の両方が促進されることが示された。また培養細胞が産生する物質を抽出しさらにメチルエステル化処理を行った後に Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) により分析したところ、メチルエステル化されたパルミチン酸およびステアリン酸が主成分として同定され、また雄ヤギ特有の匂いの主成分である 4-エチル脂肪酸なども検出された。これらの結果を踏まえ、培養細胞に対する分化誘導の影響が検討された結果、INS および Dexamethasone (DEX)、または DHT の処置により誘導をかけられた培養細胞は、処置因子に対する脂質産生における反応性を大きく変化させることが明らかとなった。

第4章では、第3章で培養系を樹立したシバヤギ皮脂腺組織由来の細胞を用いて、フェロモン合成に関与する遺伝子を特定する方法についての検討が行われた。Small interfering RNA (siRNA) を用いて遺伝子発現制御法が検討された結果、*ELOVL5* および *SCD* それぞれの遺伝子の mRNA 発現を約 80 %程度抑制できることが判明し、これら酵素の機能を阻害しうることが示された。

以上、本研究では、反芻動物に雄効果をもたらすフェロモンの合成経路に関する検討が行われ、フェロモン合成酵素の候補遺伝子が同定されるとともにフェロモン産生細胞と推定される皮脂腺細胞の培養実験系が確立されるなど、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（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。