

論文審査の結果の要旨

氏名 吉川 敬一

本研究では、鼻以外の組織に発現する嗅覚受容体について、生体内の情報を担う内在性リガンドを精製・構造決定することを目的としている。具体的には、鼻と卵細胞の双方で発現するマウス嗅覚受容体 MOR286-3 に着目し、それがそれぞれの組織においてどのような情報物質を認識しているのかを明らかにすることを目指した。本論文は、序章と実験方法から始まり、結果の章は、①組織よりリガンドスクリーニングが行える嗅覚受容体のリガンドアッセイ系の確立、②マウス生体内で作られる嗅覚受容体リガンドの同定、③卵細胞に発現する MOR286-3 の内在性リガンドについて、④包皮腺より同定したリガンド tetradecen-1-ol の生理的意義の検討、⑤MOR286-3 のリガンド構造活性相関の解析、以上、5つの項目からなっている。

項目①では、多種多様な化学物質が混在する生体組織からリガンドを効率よく探索するために、リガンドと嗅覚受容体との結合を高感度に解析できるアッセイ系を確立している。様々な細胞をスクリーニングした結果、アフリカツメガエル卵母細胞が、マウス組織抽出物に対してバックグラウンド応答を引き起こさないことがわかった。そして、嗅覚受容体と共に嗅覚系特異的 G タンパク質 G α olf、シャペロン因子、および囊胞性線維性膜貫通調節因子を共発現させることによって、嗅覚受容体とリガンドとの結合を、卵母細胞の膜電流変化を指標として高感度に評価できることが明らかになった。

項目②では、鼻と卵細胞の両方で発現するマウス嗅覚受容体 MOR286-3 について、マウス生体組織中に内在性リガンドの精製・構造決定を行った。様々なマウス組織についてメタノール抽出物を調整し、項目①で確立したアッセイ系を用いて活性の有無を検証したところ、胃、腎臓、雄の包皮腺、心臓、および血液の5つの組織抽出物が MOR286-3 発現細胞に応答を引き起こすことが分かった。次に、包皮腺からメタノール抽出を行い、限外ろ過、溶媒分画、HPLC 精製を経て、MOR286-3 活性画分を得た。マススペクトルおよびジメチルジスルフィド誘導体化反応分析の結果、(Z)-5-tetradecen-1-ol が同定された。(Z)-5-tetradecen-1-ol が哺乳類にも存在することを見出したのは本研究が初めてである。次に、腎臓からメタノール抽出を行い、同様の精製過程を経て、MOR286-3 活性画分の構造決定を行ったところ、nonanal が同定された。

項目③では、MOR286-3 が発現する卵細胞の周辺に、項目②で同定したリガンドが存在

するかを調べている。(Z)-5-tetradecen-1-ol は卵巣には検出されなかったが、Nonanal は MOR286-3 の活性閾値に近い量が卵巣に存在することがわかった。考察では、MOR286-3 の機能について議論されている。

項目④では、包皮腺から同定した(Z)-5-tetradecen-1-ol は、尿中に分泌されていることが示された。また、(Z)-5-tetradecen-1-ol は、嗅上皮に電気応答を引き起こすことが示された。考察では、鼻に発現する MOR286-3 が認識している可能性を議論している。

項目⑤では、MOR286-3 の詳細な構造活性相関をおこなっている。MOR286-3 は、分子表面に露出した水素結合受容基と、炭素数 8-13 に相当する分子の長さをもつ化合物を強く認識することがわかった。また、ラクトン骨格のような、リガンドの環状構造を受容する寛容さも持ち合わせていた。

以上、本研究ではバックグラウンド応答の少ない高感度な嗅覚受容体リガンドアッセイ系を確立し、鼻および卵巣で発現する嗅覚受容体のリガンドをマウス生体組織より同定した。鼻に発現する嗅覚受容体と匂いリガンドの対応付けは、主に合成香料を用いておこなわれてきているが、実際に生体組織で作られて分泌されて嗅覚受容体のリガンドとなる物質を見つけたのは今回の研究が初めてである。また、1992 年に嗅覚受容体が鼻以外の組織に発見されて以来、内在性リガンドの存在および受容体の機能については明らかにされていなかったが、本研究は鼻以外に存在する嗅覚受容体の機能にせまる成果であり、学術的に意義深い。

本審査における論文提出者の口頭発表は、わかりやすく、明快に研究成果が説明された。審査の質疑で集中した点は、組織から物質を抽出する際に水溶性画分に着目していない点、同定した物質が実際に時間的空間的にどのように作られ嗅覚受容体のリガンドになりうるかという点であったが、論文提出者は適確に答えた。また、博士論文は、審査員全員の共通コメントとして、わかりやすく理路整然と説得力ある形で書かれているという評価があった。

以上の結果、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。