

氏 名 (本籍)	齋 藤 正一郎 (宮 城 県)
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博甲第71号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年3月14日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岩手大学
学 位 論 文 題 目	両生類の嗅覚系に関する比較形態学的研究
審 査 委 員	主査 岩 手 大 学 教 授 谷 口 和 之 副査 帯広畜産大学 教 授 山 田 純 三 副査 岩 手 大 学 教 授 首 藤 文 榮 副査 東京農工大学 教 授 神 田 尚 俊 副査 岐 阜 大 学 教 授 鈴 木 義 孝

論 文 の 内 容 の 要 旨

脊椎動物の嗅覚系には、一般に、主嗅覚系（嗅上皮—主嗅球系）と副嗅覚系（鋤鼻器—副嗅球系）が存在する。そして嗅覚系の研究では、嗅レセプターニューロンごとに発現が異なる糖鎖を捕捉することにより、それらをいくつかのサブセットに分割し、特異的な神経回路を明らかにしていく手法がしばしば用いられ、これまで大きな成果を挙げてきた。しかし、脊椎動物において初めて独立した副嗅覚系を有するに至った両生類においては、そのサブセットについて未だ不明な点が多い。そこで本研究では、生活様式を異にする3種の両生類の嗅覚系におけるサブセットの存在様式を、各種糖鎖と結合するレクチンを用いたレクチン組織化学的染色により検索した。

第1の研究では、一生を水中で過ごすアフリカツメガエルの1次嗅覚路を脂溶性蛍光色素 Di-I およびレクチン組織化学的染色により検討した。その結果、アフリカツメガエルの1次嗅覚路は背側投射路、腹側投射路および鋤鼻投射路の3系統の嗅覚投射路から構成されており、各々の投射路は糖鎖の発現パターンを異にしていることが明らかになった。また、背側投射路もしくは鋤鼻投射路で発現している糖鎖は、腹側投射路でも豊富に発現していることから、個体発生においては腹側投射路の形成後に背側投射路および鋤鼻投射路が形成され、背側および腹側投射路の両者において発現している糖鎖は背側投射路の形成と維持に、また腹側および鋤鼻投射路の両者において発現している糖鎖は鋤鼻投射路の形成と維持に、それぞれ重要な機能を担っているということが示唆された。さらに、 α -もしくは β -N-acetylgalactosamine に対して結合特異性を有するいくつかのレクチンは、上記3系統の嗅覚投射路に対してそれぞれ類似した染色パターンを示したことから、末端にN-acetylgalactosamine 残基を有する糖鎖は3系統の嗅覚投射路の発生、分化および維持に重要な役割を果たしていると考えられた。

第2の研究では、生殖期以外は陸上で生活を営むアズマヒキガエルの嗅球を、レクチン組織化学的染色により検討した。その結果、主嗅球では、他の嗅糸球と糖鎖の発現性を異にする少数の嗅糸球が、主嗅球の腹側外側部領域に存在すること、また副嗅球は、吻側部と尾側部の2つのサブセットに分けられることが明らかになった。そこでこれらの結果から、主嗅球で観察された少数の嗅糸球からなるサブセットは、鋤鼻レセプターニューロンの軸索の一部が主嗅球に投射して形成されたものであるか、嗅上皮において他の嗅レセプターニューロンと機能をかなり異にしているニューロンの軸索により形成されたものであるという可能性が示唆された。また、副嗅球で観察された2つのサブセットについては、アフリカツメガエルの副嗅球ではサブセットの存在は観察されなかったもので、アズマヒキガエルの副嗅球の片方のサブセットはアフリカツメガルの副嗅球、もしくは腹側投射路の終末領域である主嗅球腹側部領域と類似の機能を有し、他方のサブセットは陸上における匂い分子の有効利用のために発達した、という可能性も示唆された。

第3の研究では、鋤鼻器を有する脊椎動物のうちで、系統発生的に最下位にある有尾両生類のなかでも、幼形成熟を行う有尾両生類であるメキシコサンショウウオの嗅球を、レクチン組織化学的染色により検討した。その結果、主嗅球と副嗅球間では糖鎖の発現性に相違が観察されたのに対し、主嗅球および副嗅球のそれぞれにおいてはサブセットは存在しないことが明らかになった。そこで、系統発生的に古い動物であるメキシコサンショウウオにおいても、主嗅球と副嗅球間で糖鎖の発現性に相違があることは、脊椎動物の進化に伴う1系統から2系統への嗅覚系の分化に対し、嗅レセプターニューロンの細胞膜上の糖鎖の構造変化がいち早く対応し、2系統の嗅覚系の構成と維持に深く関与してきたことを示唆する、ということが考えられた。また、幼形成熟のメキシコサンショウウオの嗅球ではサブセットが観察されなかったのに対し、外鰓を消失した完全成体の有尾両生類ではサブセットの存在が示唆されていることから、水生生活から陸上生活への環境の変化は、嗅覚系におけるサブセット構造の発達を促す、という可能性も示唆された。

以上より、本研究では、生活様式を異にする3種類の両生類の嗅覚系におけるサブセットの存在様式を、レクチン組織化学的に明らかにし、脊椎動物における嗅覚系の進化について若干の考察を加えた。

審 査 結 果 の 要 旨

脊椎動物には一般に2つの独立した嗅覚系、すなわち、主嗅覚系（嗅上皮—主嗅球系）と副嗅覚系（鋤鼻器—副嗅球系）が存在する。しかし脊椎動物の中でも、両生類の嗅覚系については不明な点が多い。そこで申請者は、以下の理由から、両生類の嗅覚系について研究を進めることとした。（1）両生類は、脊椎動物において初めて独立した副嗅覚系を所有するに至った動物であるから、両生類についての研究は、脊椎動物の進化の上で、副嗅覚系の出現する理由および嗅覚系が2系統に分化する過程を解明するのに役立つ。（2）両生類は主に水中生活を営むものから陸上生活を営むものまで幅広い生息域を有する種属であるから、生活環境を異にする両生類間の嗅覚系を比較することにより、嗅覚系と環境の相互関係を解明するのに役立つ。

ところで嗅覚系の研究に関して、嗅レセプターニューロンごとに発現が異なる糖鎖を捕捉することにより、それらをいくつかのサブセットに分割し、特異的な神経回路を明らかにしていく手法があるが、両生類のサブセットについては未だ不十分な検索しか行われていない。そこで申請者は、各種両生類の嗅覚系におけるサブセットの存在様式を、各種糖鎖と結合するレクチンを用いたレクチン組織

化学的染色により検索した。

第1の研究では、一生を水中で過ごすアフリカツメガエルの1次嗅覚路を脂溶性蛍光色素 Di-I およびレクチン組織化学的染色により検討した。その結果、アフリカツメガエルの1次嗅覚路は背側投射路、腹側投射路および鋤鼻投射路の3系統の嗅覚投射路から構成されており、各々の投射路は糖鎖の発現パターンを異にしていることを明らかにした。また、背側投射路もしくは鋤鼻投射路で発現している糖鎖は、腹側投射路でも豊富に発現されていることから、個体発生において腹側投射路の形成後に背側投射路および鋤鼻投射路が形成され、背側および腹側投射路の両者において発現されている糖鎖は背側投射路の形成と維持に、腹側および鋤鼻投射路の両者において発現している糖鎖は鋤鼻投射路の形成と維持に、それぞれ重要な機能を担っているという考察を得た。さらに、 α -もしくは β -N-acetylgalactosamine に対して結合特異性を有するレクチンの3系統の嗅覚投射路に対する染色パターンは類似していたことから、末端に N-acetylgalactosamine 残基を有する糖鎖は3系統の嗅覚投射路の発生、分化および維持に重要な役割を果たしていると考えた。

第2の研究では、生殖期以外は陸上で生活を営むアズマヒキガエルの嗅球をレクチン組織化学的染色により検討した。その結果、主嗅球では、他の嗅糸球と糖鎖の発現性を異にする少数の嗅糸球が、主嗅球の腹側外側部領域に存在すること、また副嗅球は、吻側部と尾側部の2つのサブセットに分けられることを明らかにした。そこでこれらの結果から、主嗅球で観察された少数の嗅糸球からなるサブセットは、鋤鼻レセプターニューロンの軸索の一部が主嗅球に投射して形成されたものであるか、嗅上皮において他の嗅レセプターニューロンと機能をかなり異にしているニューロンの軸索により形成されたものであるという可能性を示唆した。また副嗅球で観察された2つのサブセットについては、アフリカツメガエルの副嗅球ではサブセットの存在は観察されなかったことから、アズマヒキガエルの副嗅球の片方のサブセットはアフリカツメガエルの副嗅球、もしくは腹側投射路の終末領域である主嗅球腹側部領域と類似の機能を有し、他方のサブセットは陸上における匂い分子の有効利用のため発達したという可能性も示唆した。

第3の研究では、鋤鼻器を有する脊椎動物のうちで、系統発生的に最下位にある有尾両生類のなかでも、幼形成熟を行う有尾両生類であるメキシコサンショウウオの嗅球を、レクチン組織化学的染色により検討した。その結果、主嗅球と副嗅球間では糖鎖の発現性に相違が観察されたのに対し、主嗅球および副嗅球のそれぞれにおいてはサブセットは存在しないことを明らかにした。そこで、系統発生的に古い動物であるメキシコサンショウウオにおいても、主嗅球と副嗅球間で糖鎖の発現性に相違があることは、脊椎動物の進化に伴う1系統から2系統への嗅覚系の分化に対し、嗅レセプターニューロンの細胞膜上の糖鎖の構造変化がいち早く対応し、2系統の嗅覚系の構成と維持に深く関与してきたことを示唆する、という考察を得た。また、幼形成熟のメキシコサンショウウオの嗅球ではサブセットが観察されなかったのに対し、外鰓を消失した完全成体の有尾両生類ではサブセットの存在が示唆されていることから、水生生活から陸生生活への環境の変化は、嗅覚系におけるサブセット構造の発達を促す、という可能性も示唆した。

以上より、申請者は、両生類の主嗅覚系および副嗅覚系をレクチン組織化学的染色を用い比較形態学的に検索し、当初の2つの研究目的に対する若干の解答を示した。

以上について、平成12年1月26日に開催された審査委員会において慎重審議した結果、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

<基礎となる学術論文>

1. Saito, S. and Taniguchi, K. (2000)

Expression patterns of glycoconjugates in the three distinctive olfactory pathways of the clawed frog, *Xenopus laevis*. J. Vet. Med. Sci. 62: in press.

<既発表学術論文>

1. Saito, S., Nii, Y. and Taniguchi, K. (1999)

Heterogeneous expression of glycoconjugates among individual glomeruli of the hamster main olfactory bulb. Chem. Senses 24: 509-515.

2. Nakajima, T., Sakaue, M., Kato, M., Saito, S., Ogawa, K. and Taniguchi, K. (1998)

Immunohistochemical and enzyme-histochemical study on the accessory olfactory bulb of the dog. Anat. Rec. 252: 393-402.