

氏名（本籍）	中島崇行（栃木県）
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣医博甲第58号
学位授与年月日	平成10年9月22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	嗅覚系情報伝達機構に関する形態学的ならびに 分子生物学的研究
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

哺乳類の嗅覚系には主嗅覚系（嗅上皮—主嗅球系）と副嗅覚系（鋤鼻器—副嗅球系）の2系統が存在し、前者は一般的な匂い、後者はフェロモン様物質などを知覚すると考えられている。しかし、それぞれの嗅覚系における情報伝達機構の詳細についてはいまだ不明な点が多いため、本研究ではその解明を目的として以下のような検索を行った。

1. 嗅覚系の一次中枢である嗅球は主嗅球と副嗅球から成り、その抑制性介在ニューロンの一つとして短軸索細胞が存在する。短軸索細胞は鍍銀染色による形態学的特徴や分布位置などから6種類に分類されるが、短軸索細胞に局在する神経伝達物質、神経特異的タンパクなどの詳細は不明であり、また副嗅球の短軸索細胞についてはこれまでほとんど報告がなされていない。そこで第2章では、2系統の嗅覚系がよく発達する齧歯類のハムスターから嗅球を採取し、各種抗血清を用いた免疫組織化学的検索ならびに酵素組織化学的検索を行った。その結果、神経伝達物質である neuropeptide Y、somatostatin および vasoactive intestinal polipeptide、神経特異的タンパクである protein gene product 9.5 (PGP 9.5)、またフリーラジカルの神経情報伝達物質である一酸化窒素を合成する一酸化窒素合成酵素 (NOS)、さらに、NOS と同一であるとされる NADPH-diaphorase に対して陽性を示す短軸索細胞が主嗅球、副嗅球のいずれにも共通に存在することが明らかとなった。同じ反応性を示す各種短軸索細胞は、主嗅球、副嗅球のいずれにおいても類似の機能を有してい

る可能性が高いため、主嗅球と副嗅球にはこれらの細胞が関わる共通の嗅覚系情報伝達機構が存在することが示唆された。

2. 神経特異的タンパクである PGP 9.5 は嗅覚系に豊富に存在し、その受容器である嗅上皮や鋤鼻器においては PGP 9.5 に関する発生学的研究もなされているが、一次中枢である嗅球における PGP 9.5 の発現パターンの詳細についてはいまだ知られていない。そこで第 3 章では、発生過程のハムスター嗅球を材料として PGP 9.5 を免疫組織化学的に検出するとともに、PGP 9.5 を嗅球の各種ニューロンに対するマーカーとして利用することによって、各種ニューロンの分化時期、主嗅球および副嗅球の形態形成についても観察を行った。その結果、PGP 9.5 は胎齢 13 日から主嗅球と副嗅球に検出されたが、樹状突起の伸長、嗅系球の形成、層構造の完成などは副嗅球よりも主嗅球で早期に認められた。PGP 9.5 は細胞内タンパク代謝経路に関与するユビキチンの C 末端加水分解酵素に相当するため、PGP 9.5 は発生の早期段階から出現し、嗅球の各種ニューロンの機能維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

3. 副嗅覚系は齧歯類、食肉類などではよく発達するため、その中枢の副嗅球や受容器の鋤鼻器について多方面からの研究がなされているが、高等な霊長類では副嗅覚系はあまり発達せず、その詳細についても不明な点が多い。そこで第 4 章では、鋤鼻器を有する数少ない新世界ザルであるコモンマーモセットを材料とし、鋤鼻器における各種糖鎖の分布をレクチン組織化学的に検索するとともに、鋤鼻神経軸索に最も豊富に結合したレクチンである UEA-I を用いて鋤鼻器から副嗅球への投射経路を同定した。さらに、神経特異的タンパクである PGP 9.5 に対する免疫組織化学的手法により、副嗅球の細胞構築についても検索を行った。その結果、各種レクチンに対する結合パターンから、鋤鼻神経細胞群は Gal β 1,3GalNAc 末端鎖を持つ複合糖質を有する鋤鼻神経サブグループと、それを有さないサブグループとに分けられることが示唆された。また、鋤鼻器から副嗅球への投射経路をたどったところ、副嗅球はコモンマーモセットでは、齧歯類などのように主嗅球の後背側にあるのではなく、嗅脚内に存在することが明らかになった。さらに、細胞構築によりコモンマーモセットの副嗅球は、齧歯類のような 5 層構造を示すのではなく、表層から鋤鼻神経層、嗅系球層、僧帽/房飾細胞層の 3 層構造を取ることが判明した。これらの結果より、霊長類であるコモンマーモセットにおいても鋤鼻神経はサブグループに分けられるが、副嗅球の位置は特異的であり、また副嗅覚系に関与するニューロンの数は齧歯類などよりも少ないことが示唆された。

以上より、本研究では 2 系統の嗅覚系がよく発達するハムスターにおいて、嗅覚系の介在ニューロンである短軸索細胞の神経伝達物質、嗅球の発生過程における各種ニューロンの分化過程と層構造の発達過程などを検索するとともに、副嗅覚系を有する数少ない新世界ザルであるコモンマーモセットにおいて、その副嗅覚系における糖鎖の分布パターン、投射経路、細胞構築などを検索し、哺乳類の嗅覚系情報伝達機構の一端を明らかにした。

審 査 結 果 の 要 旨

哺乳類の嗅覚受容器には嗅上皮と鋤鼻器があり、嗅覚系の一次中枢である嗅球は主嗅球と副嗅球から成る。そして嗅覚情報は嗅上皮から主嗅球、鋤鼻器から副嗅球に送られるため、哺乳類の嗅覚系は主嗅覚系（嗅上皮－主嗅球系）と副嗅覚系（鋤鼻器－副嗅球系）の2系統に分けられる。これらの嗅覚系には機能的分担があり、主嗅覚系は一般的な匂い、副嗅覚系はフェロモン様物質などを知覚すると考えられている。しかし、それぞれの嗅覚系の情報伝達機構については不明な点が多々残されているため、申請者は、哺乳類の嗅覚系伝達機構を分子および細胞レベルで詳細に検索し、以下のような成績を得た。

1. ハムスター嗅球の短軸索細胞に局在する神経伝達物質、神経特異的タンパク質、一酸化窒素合成酵素（NOS）および NOS と同一であるとされる NADPH-diaphorase について免疫組織化学的、酵素組織化学的検索を行い、neuropeptide Y、somatostatin、vasoactive intestinal polypeptide、protein gene product 9.5 (PGP 9.5)、NOS および NADPH-diaphorase に陽性の短軸索細胞が主嗅球、副嗅球のいずれにも分布していることを明らかにした。同じ反応性を示す各種の短軸索細胞は、主嗅球、副嗅球のいずれにも分布していようととも類似の機能を有している可能性が高いため、主嗅球と副嗅球にはこれらの細胞に関わる共通の情報伝達機構が存在することが示唆された。

2. 発生過程のハムスター嗅球における PGP 9.5 を免疫組織化学的に検出し、その発現パターンを検討するとともに、PGP 9.5 を嗅球の各種ニューロンのマーカーとして、主嗅球および副嗅球の発生過程を観察した。その結果、PGP 9.5 は胎齢 13 日から主嗅球および副嗅球に出現すること、各種ニューロンはそれぞれ胎生期に分化すること、樹状突起の伸長、嗅系球の形成および層構造の完成は主嗅球で副嗅球より早期に認められることなどが明らかになった。また、PGP 9.5 はユビキチンの C 末端加水分解酵素に相当し、発生早期から出現するため、嗅球の各種ニューロンの機能維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

3. 副嗅覚系は齧歯類、食肉類などではよく発達するため、その中枢の副嗅球や受容器の鋤鼻器について多方面からの研究がなされているが、高等な霊長類では副嗅覚系はあまり発達せず、その詳細についても不明な点が多い。そこで本研究では新世界ザルの一種であるコモンマーモセットの鋤鼻器における各種糖鎖の分布、鋤鼻器から副嗅球への投射経路、副嗅球の細胞構築をレクチン組織化学的ならびに免疫組織化学的手法によって検索し、鋤鼻器の感覚細胞群は Gal β 1,3 GalNAc 末端鎖を有する複合糖質を含むサブグループとそれを含まないサブグループに分けられること、主嗅球は嗅脚内に存在すること、副嗅球は表層から鋤鼻神経層、嗅系球層、僧帽／房飾細胞層に分けられることを明らかにした。これらの結果は齧歯類などの副嗅覚系に関する報告とはかなり異なり、新世界ザルの副嗅覚系に関与するニューロンの数は齧歯類などよりも少ないことが示唆された。

以上より、申請者は、ハムスターにおいて短軸索細胞の神経伝達物質、嗅球の発生過程における各種ニューロンの分化過程と層構造の発達過程などを明らかにするとともに、

コモンマーモセットの副嗅覚系における糖鎖の分布パターン、投射経路、細胞構築などを明らかにし、哺乳類の嗅覚系情報伝達機構の一端を解明した。

以上について、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充分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

1. J. Vet. Med. Sci. 58:903-908, 1996
2. Anat. Rec. 250:238-244, 1998
3. J. Vet. Med. Sci. 60:1005-1011, 1998