

匂い分子は嗅細胞に存在する受容体に結合して、嗅細胞の細胞電位を変化させる。細胞電位は、嗅神経部位においてインパルス信号に変換され、匂い情報が脳に送られる^{1,2)}。本章では、嗅細胞がどのような受容体を有し、どのような機構で匂い情報を電気信号へ変換するかを紹介する。また、嗅細胞は、ほとんど無数といっている数の匂い分子を高感度で感知し、微小な化学構造の違いを識別する機能を有する。本章では、嗅細胞がどのような機構で、数多くの化学物質を感知・識別するかを考察する。従来フェロモンの研究は昆虫を中心に行われてきたが、最近は哺乳動物のフェロモンが脚光を浴びている。本章では、哺乳動物のフェロモンの受容・識別機構についての最新の研究成果を紹介する。

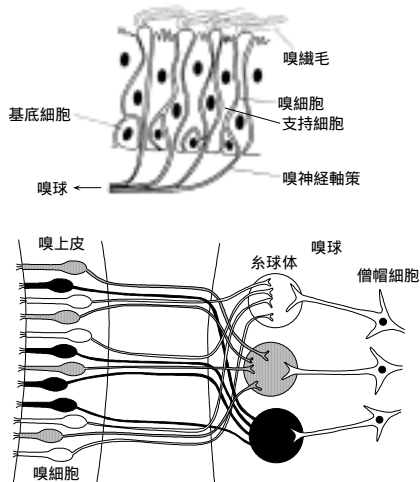


図1 嗅上皮の模式図(a)。嗅上皮から嗅球への投射(b)。ある種の嗅覚 GCR を発現している嗅細胞は、特定の僧帽細胞へ糸球体を介して入力している²⁸⁾。コイ嗅上皮の走査型顕微鏡写真(c)。嗅繊毛(黒い矢印)と密に存在する非感覚細胞の繊毛(白い矢印)。

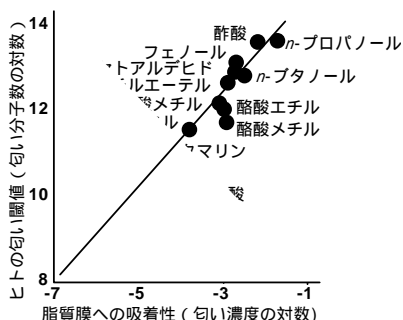


図2 ヒトの匂い閾値(空気1ミリリットルあたりの匂い分子数)と匂い分子の親油性との関係³⁾

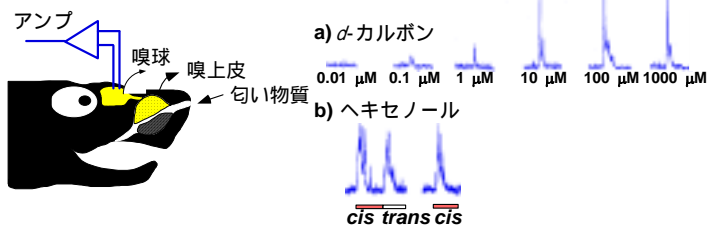


図3 カメの嗅球より測定した各種濃度の d-カルボンに対する応答(a)⁴⁾。ヘキセノールのシス体とトランス体を用いた交差順応実験(b)⁵⁾。トランス体に対する応答が順応した後に与えたシス体に対する応答は、シス体を単独で与えたときの応答と同様に生じた。

匂い物質に対する全体的なあるいは平均的な応答に関する情報を得ることは難しい。匂い物質に対する平均的な応答を測定するためには、嗅上皮、嗅神経束あるいは嗅球に電極を接触させて電気応答を測定する方法が用いられる。図3のように、カメの嗅球に電極を接触させると、長いときには一週間にわたって安定した匂い応答を測定することが可能となる。カメの嗅覚器にいろいろな濃度のd-カルボンを与えると、濃度の増加とともに応答が大きくなるのがわかる⁴⁾。カルボンに対する応答を濃度に対してプロットすると、図4のような曲線が得られる。匂い応答の大きさは匂いの濃度そのものに比例しているのではなく、対数

1 嗅覚系の一般的な性質

1-1-1 嗅覚器の構造

匂いを受容する部位である嗅上皮は、嗅細胞、支持細胞と基底細胞から構成されている(図1)。これらの細胞のうち、嗅細胞だけが匂い分子の受容機能をもつ。一個の嗅細胞からは10本近くの嗅線毛が伸びている。嗅上皮表面を走査型電子顕微鏡で観察すると、写真のように密生している非感覚性の繊毛(白矢印)と嗅繊毛(黒矢印)が見える。嗅繊毛が生えている膨らんだ部分を嗅小胞と呼ぶ。嗅小胞から細胞体にはデンドライトが伸びており、細胞体から逆の方には神経軸策が伸びている。軸策の末端は、嗅覚一次中枢である嗅球の僧帽細胞と呼ばれる神経細胞とシナプス結合している。

嗅細胞は、常に外界にさらされているために有害な化学物質により損傷されやすい。このために、定期的に基底細胞が新しい嗅細胞に分化して、損傷した嗅細胞に置き換わっている。ラットの嗅細胞は、およそ30日で新しい細胞に置き換わる。

1-1-2 嗅覚器の特性

生物が生産した物質のみならず、人工的に合成した化合物にも匂いがあるので、匂いの種類は無数にあるといってもよい。嗅覚器は、これらの物質を鋭敏に検知し、識別している。嗅上皮は嗅粘液で被われているので、わずかでも水に溶ける性質をもっている物質でないと、嗅受容膜まで到達できない。メタン、エタン、プロパンなどは、水に溶けないために匂い物質として受容されない。水に溶けない物質には匂いはないが、水に溶けやすいほど匂いが強いわけではない。むしろ、水に溶けにくい疎水性の高い物質ほど、低濃度で匂いがする。ヒトが匂いを感じる最小濃度(閾値濃度)と疎水性度をプロットすると、非常によく相関関係が見られる(図2)³⁾。たとえば、水に溶けやすいプロパノールは、高濃度でないと匂いを呈しないが、疎水性度の高いヨンはこれより10000の1の低濃度で匂いを呈する。このような関係は、匂い物質が疎水結合により受容部位に結合することに起因している。

1-1-3 匂い応答の測定方法

1-1-3-1 匂いの強さ

匂い物質がもつ情報は、まず、嗅細胞で脱分極と呼ばれる電気的な情報に変換され、さらにインパルスに変換される。インパルスは、神経を伝わる間に減衰しないという特性を有する。嗅神経軸策から嗅球に情報が伝えられると、脳波という形で匂い情報が現れる。

匂いの情報を定量的に測定するために、さまざま測定が行われてきた。匂いの受容機構に関する情報を得るには、嗅細胞の匂い応答を測定するのがもっとも直接的である。しかしながら、嗅細胞の細胞体の大きさは、直径が約10 μmと一般の神経細胞と比べて非常に小さい。このために、微小なガラス電極を細胞に刺す手法しかなかった時代には、鈴木によるカワヤツメからの匂い応答の測定がなされただけで、細胞レベルの実験がなかなか進まなかった。1991年にノーベル賞を受賞したNehrとSackmannにより開発されたパッチクランプ法が適用されるようになり、単一の嗅細胞からの電気的な応答が次々と測定されるようになった。パッチクランプ法は細胞に電極を刺入するのではなく、微小ガラスピペットの先端に細胞を吸い付けることにより記録する。このために細胞に与える損傷が少なく、この手法が嗅覚の研究分野に導入されて以来、匂いの受容機構の解析が大きく進歩した。

個々の嗅細胞は、いろいろな匂い物質に対しさまざまな応答特性を示す。このために、個々の嗅細胞からの情報だけでは、

表1 カメ嗅覚器における各種光学異性体の識別

物質	識別度
カルボン	0.78
シトロネロール	0.75
メントール	0.52
水酸化シトロネラール	0.42
シトロネラール	0.36
リモネン	0.26

濃度に比例している。このような関係は、ウエバー・フェヒナーの法則と呼ばれている。嗅覚器のこのような特性は、極低濃度から高濃度までの広い濃度領域にわたって変化する匂い分子を感知するのに役立つ。

1-1-3-2 匂いの識別

匂い応答の一つの特徴は、慣れ（順応、脱感作）が生ずることである。夏の北海道は、ラベンダーの花畑で有名である。花畑で紫の可憐な花を鑑賞しているうちに、強い香りがただよっているにもかかわらず、ラベンダーの香りをあまり感じなくなってしまう。このような現象は、嗅覚器に慣れが生じたために起こる。ただし、花畑の中でも北海道名物のトウキビ（とうもろこし）を焼いて売っている店先では、香ばしいトウキビの匂いを嗅ぐことができる。これは、慣れが特定の匂い物質に対してのみ生じるためである。

このような嗅覚器の特性は交差順応法と呼ばれる実験手法に応用され、匂いの識別を調べるための貴重な手段となっている。たとえば、トランス-3-ヘキセノールをカメに与えると、図3bのような応答が生ずるが、やがて順応して消失する。この状態でシス-3-ヘキセノールを与えると、新たな応答が生じる⁵⁾。この結果は、カメ嗅細胞にはヘキセノールのシス型とトランス型の両者に対する受容体が存在し、カメは両異性を識別できることを示している。

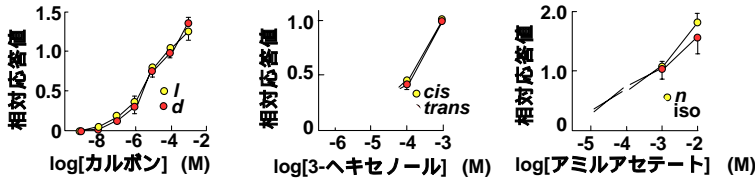


図4 カメ嗅覚器の各種異性体に対する応答⁴⁻⁶⁾

1-2 異性体の匂い強度と匂いの質の違い

各種異性体は、嗅覚器でどのように受容されているのだろうか。まず、光学異性体が引き起こす応答の大きさに違いがあるかどうか注目してみる⁴⁾。図4のように、*d*-カルボンに対する濃度 応答の曲線は、*l*-カルボンの曲線とほぼ重なっている。応答が生ずる匂い物質の最小濃度（閾値濃度）も変わらない。リモネン、シトロネロール、シトロネラル、メントール、ヒドロキシシトロネラルなどの他の光学異性体について調べてみても、*l*体と*d*体が引き起こす応答の大きさの間には、ほとんど違いが見られなかった。

幾何異性体であるシス-3-ヘキサノールとトランス-3-ヘキサノール⁵⁾、構造異性体である*n*-酢酸アミルとイソ酢酸アミル⁶⁾間にも応答の大きさの違いが見られなかった（図4）。このように、匂いの強さは、光学異性体、幾何異性体および構造異性体の中で明確な違いがみられない。先に匂いの応答閾値濃度は匂い物質の疎水性に依存していることを述べた。これらの異性体間で疎水性がほとんど変わらないことを考えると、異性体間で匂いの強さに差がないことが理解できる。ちなみに、フェロモンの場合には、異性体間でその活性に大きな差がある。たとえば、カイコのフェロモンであるボンビコールの場合には、シス体とトランス体のフェロモン活性には一億倍以上の差がある。

カルボンやメントールなどの光学異性体は、それぞれが違う匂いをもっているとされている。しかし、熟練した調香師は別として、われわれが実際に匂いを嗅いでみると、光学異性体は互いに同じような匂いをもっており、両者を識別するのは容易ではない。動物に交差順応法を適用すると、嗅覚器の匂いの識別能を定量的に解析できる。表1は、いくつかの光学異性体間での識別の程度をまとめている⁴⁾。嗅覚器は、いろいろな光学異性体を識別するが、識別の程度はさまざまである。カルボンの場合はよく識別されるが、メントールの場合は識別の程度が小さい。また、*n*-アミル酢酸とイソアミル酢酸も識別される。以上の結果は、それぞれの匂い物質の異性は異なる受容体を刺激するために、両者が識別されることを示唆する。

1-3 細胞内情報伝達

図5に嗅細胞での情報変換過程をまとめた。匂い物質が受容体と結合するとGTP結合蛋白質を介して、アデニル酸シクラーゼ（cAMP合成酵素）あるいはホスホリパーゼC（IP₃合成酵素）が活性化される。細胞内で生じたサイクリックAMP（cAMP）あるいはイノシトールトリスリン酸（IP₃）は、それぞれに対応するイオンチャンネルを開口し、嗅細胞の電気的興奮を引き起こす。また、これらのセカンドメッセンジャーを介さない経路も、匂い応答の発現に重要な役割を演じている。以下に、嗅細胞内での情報伝達経路について詳しく説明する。

1-3-1 匂い物質によるセカンドメッセンジャーの産生

神経伝達物質やホルモンを受容する細胞では、細胞内にセカンドメッセンジャーの合成系が発達している。1972年に栗原と小山は嗅上皮に強いアデニル酸シクラーゼ活性が認められること報告し、匂い応答の発現にセカンドメッセンジャーを介した経路が関与する可能性を初めて示した⁷⁾。その当時は、GTPおよびGTP結合蛋白質がアデニル酸シクラーゼの活性化に必要であるという概念は確立されていなかったために、匂い物質によるcAMPの産生は示されていなかった。それから、10年以上経た後に、Lancetのグループが匂い物質はGTP依存的にcAMPの産生を引き起こすことを見つけた⁸⁾。しかし、続けて

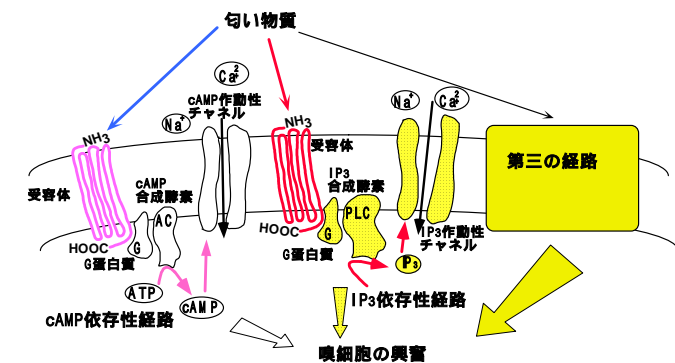


図5 匂いの情報変換機構

表2 cAMPを増加させる匂い物質(+)とIP₃を増加させる匂い物質(*)

	ラット ¹⁰⁾	ヒツジ ¹¹⁾	ウシガエル ⁹⁾	カメ ¹²⁾
シトラルバ	+	+	+	+
グラニオール	+	+	+	+
<i>l</i> -カルボン	+	+	+	+
ヘディオン	+	+	+	+
オイゲノール	+	+	+	+
シネオール			+	+
<i>l</i> -シトロネラル	+		+	+
メントン			+	+
リリアル	*		-	-
ライラル	*	*	-	-
エチルバニリン	*	-	-	-

(-) は、cAMPを増加させない匂い物質でIP₃に関しては測定されていない。カメは 混合液で測定したため

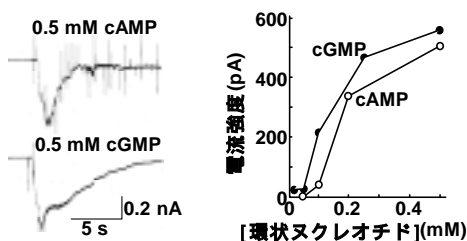


図6 ウシガエル嗅細胞の環状ヌクレオチドに対する応答¹³⁾

発表されたSklarらのウシガエルの嗅毛標品を用いた実験により、匂い物質の中には大きな匂い応答を引き起こすがcAMPを全く増加させない匂い物質が存在することが示された⁹⁾。現在までに調べられているおよそ70種類の匂い物質のなかで、60%近い匂い物質がcAMPを産生させるが、残りの匂い物質はcAMP濃度を増加させなかった。Breerのグループは、cAMPの産生を引き起こさない匂い物質の中にはIP₃産生させる匂い物質が存在することを見出した（表2）¹⁰⁾。彼らが測定した匂い物質はcAMPかIP₃のいずれか一つのセカンドメッセンジャーしか増加させなかった。以上の結果から、匂い物質の中にはcAMP濃度を増加させるグループとIP₃濃度を増加させるグループが存在することが示唆された。このような匂い物質のグループ分けは、揮発性の匂い物質を受容する動物の間では種間の違いを越えて成立する。たとえば、ウシガエルの嗅細胞でcAMP産生を引き起こさない匂い物質は、ラット、ヒツジ¹¹⁾およびカメ¹²⁾などの嗅細胞でもcAMP産生を引き起こさない。

Lancetらの報告でcAMPが匂い応答の発現に寄与している可能性が現実味を帯びてきたが、cAMPがどのような機構で情報変換に寄与するかは不明であった。1986年に鈴木は、遊離したウシガエル嗅細胞内へcAMPを投与したところ、内向き電流応答が生ずることを報告した(図6)¹³⁾。この結果は、嗅細胞にcAMPで開くチャンネル(cAMP作動性チャンネル)が存在することを初めて示した。光を受容する視細胞で存在する環状ヌクレオチド作動性チャンネルは、cAMPではなくcGMPが特異的にチャンネルを開くことが知られていたが、嗅細胞の場合にはcAMPとcGMPの両者がチャンネルに対する効果を有していた。また、嗅細胞に存在する嗅繊毛の数が多いと、cAMPで引き起こされる応答が大きかったことから、cAMP作動性チャンネルは嗅繊毛に存在することが推測された。これを裏付けるように、翌年に中村とGoldにより嗅繊毛にcAMPで活性化されるイオンチャンネルの存在が報告された¹⁴⁾。それ以来、さまざまな動物の嗅細胞にcAMP作動性チャンネルが存在することが見出された。また、倉橋はイモリ嗅細胞では匂い応答とcAMPに対する応答がよく似ていることを報告した¹⁵⁾。これらの結果は、匂い応答はcAMPを介して引き起こされる可能性を示唆した。このように、嗅覚受容におけるセカンドメッセンジャーの働きを示唆する主要な実験結果は、日本人により次々と示された。

一方、ラット、ヒト、カエル、ナマズやロブスターなどの嗅細胞にIP₃を注入すると応答が発現することが報告された。一般的にはIP₃で開くチャンネル(IP₃作動性チャンネル)は、Ca²⁺を貯蔵している細胞内小胞に存在している。しかしながら、Restrepoのグループは、この細胞内小胞が含まれていない嗅繊毛膜標品からIP₃で活性化するコンダクタンスの上昇を記録した¹⁶⁾。また、膜電位固定下でCa²⁺感受性の蛍光色素fura2を負荷し、IP₃が引き起こす応答について解析した結果から、IP₃は細胞膜に存在するIP₃作動性チャンネルに直接作用することにより応答を発現させることを示唆された¹⁷⁾。これらのIP₃作動性チャンネルの解析と先に述べた生化学的な実験から、cAMPを介さない匂い物質に対する応答は、IP₃を介して発現することが示唆された。現在のところ、嗅細胞に特異的に存在するcAMP作動性チャンネルはクローニングされているが、IP₃作動性チャンネルは見つかっていない。嗅細胞に存在するIP₃作動性チャンネルは細胞膜に存在する特徴を有しているため、近い将来に新しいIP₃作動性チャンネルがクローニングされる可能性があると思われる。

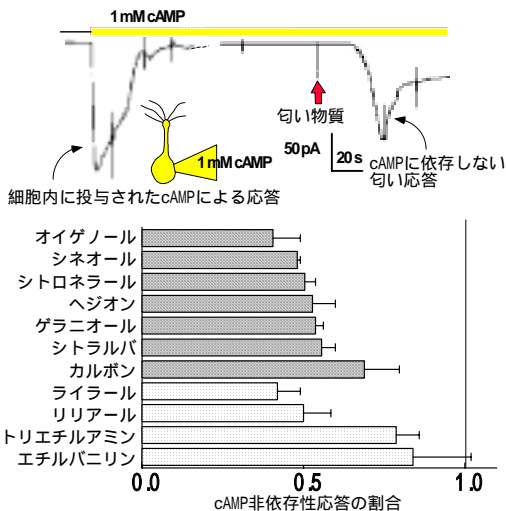


図7 カメ嗅覚器で測定されたcAMPに依存しない匂い応答^{20, 21)}

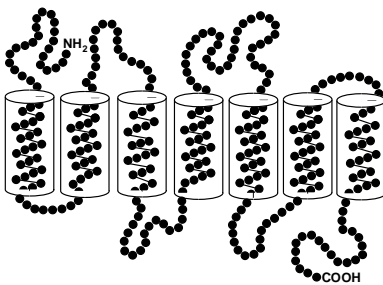


図8 嗅覚器からクローニングされた嗅覚 GCR²⁵⁾

1-3-2 セカンドメッセンジャーを介さない匂い応答

Lancetのグループは、定量的なRT-PCR法により、マウス嗅細胞のcAMP作動性チャンネルは、胎生19日目からが発現しはじめることを示した¹⁸⁾。一方、Gestelandらは、発生に伴う嗅細胞の匂い応答の変化を測定したところ、胎生15日目から匂い応答が生ずることを報告している¹⁹⁾。このように、未成熟な嗅細胞は、cAMP作動性チャンネルが発現していないにもかかわらず、匂い物質に応答する能力を持っている。これらの匂い物質には、cAMPは産生するがIP₃は産生しない匂い物質が含まれているので、cAMPとIP₃の両者に依存しない匂い応答が未成熟な嗅細胞で生じていることを示している。

それでは、成熟した嗅細胞でも、cAMPを介さない匂い応答が発現するのであるのか。筆者らはcAMP作動性チャンネルが働かない状態(順応した状態)を作り出して、匂い応答を測定した(図7)^{20, 21)}。カメやカエルの嗅細胞に高濃度のcAMPを注入すると、いったん大きな応答が発生するが、cAMPを与え続けているにもかかわらず応答が順応する。このような条件下で匂い物質を投与すると、新たに大きな匂い応答が生じた。この結果は、成熟した嗅細胞でもcAMPを介さない経路が匂い応答の発現に大きな寄与を果たしていることを示唆した。より定量的でかつin vivoに近い状態でデータを得るために、カメの嗅球応答の測定により、この問題を検討した。cAMP非依存性経路を介する応答の寄与は、匂い物質ごとに異なるが、50%から80%以上であった²⁰⁾。なお、ここで述べているcAMP非依存性経路を介する

応答は、IP₃を介する応答だけではなく、両セカンドメッセンジャーを介さずに発現する応答である。

一方、分子生物学的な手法を用いて、cAMP作動性チャンネルの働きを検討する試みもなされている。Ngaiのグループは、cAMP作動性チャンネルをノックアウトした生後一日の新生児マウスが匂い物質に応答する能力を有しているかを検討した²²⁾。ノックアウトマウスでは、cAMPを増加させる匂い物質のみならずcAMPは全く増加させないがIP₃を増加させる匂い物質を含めたすべての匂い応答が生じなかった。このような結果から、匂い応答はすべてcAMP作動性チャンネルを介する経路で生じていると結論した。cAMP作動性チャンネルは、脳(嗅細胞が入力している嗅球を含む)および大動脈や心臓などの循環器系にも発現していることから、このチャンネルを欠損したマウスの生体機能ははかり損傷を受けていると考えられる。実際、このチャンネルの欠損は致死的に働き、ほとんどのマウスは生後一日から二日の間に死んでしまう。このようなマウスの嗅細胞が正常な生体的な機能をもっているかどうか疑問視する意見もある。

同様に、嗅細胞に特異的に発現しているG_sタイプのGTP結合タンパク質(G_{olf})をノックアウトしたマウスの匂い応答も調べられている²³⁾。この場合も、cAMPとは無関係な匂い物質を含むすべての匂い物質に対する応答が抑制されてしまった。G_{olf}はIP₃の合成には関与していないので、何らかの副作用により嗅細胞の匂い応答能が非選択的に抑制されたことも考えられる。このようなノックアウトマウスを用いる実験の場合は、ノックアウトした分子が直接関与していると思われる機能以外が正常であるかどうかを慎重に考慮する必要がある。

cAMPやIP₃などのセカンドメッセンジャーに依存しない経路は、以下のような可能性が考えられている。たとえば、Breerのグループは、匂い物質がcGMPを産生されることを報告した²⁴⁾。cGMP合成酵素(グアニル酸シクラーゼ)の中には、一酸化窒素(NO)で活性化されるタイプが存在する。彼らは、NO合成酵素の阻害剤が匂い物質によるcGMP合成を抑制することを見出した。これらの結果から、匂い物質がNOの産生を促し、さらにグアニル酸シクラーゼを活性化し、細胞内のcGMP濃度を増加させる経路が考えられている。ただし、嗅細胞ではcGMPもcAMP作動性チャンネルを通じて興奮を引き起こすことが示されている。このため、NOとcGMPが独立に匂い応答の発現に寄与をしているのではなく、

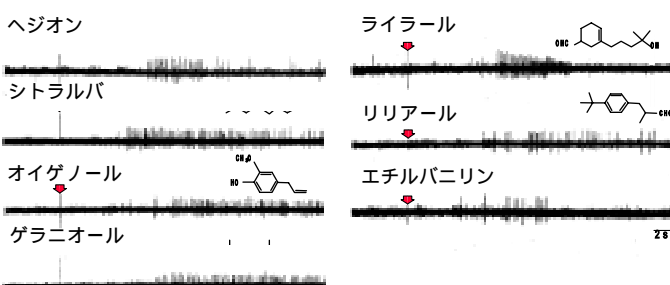


図9 ウシガエル単一嗅細胞の各種匂い物質に対する応答³¹⁾

あくまでもcAMPの働きを補完する程度の役割しか果たしていないものと思われる。したがって、cAMPやIP₃を介さない匂い応答は、cGMPやNOも介さずに発現するものと思われる。後に述べるように、この系を介する応答は、匂い分子が嗅細胞膜の脂質層に吸着することにより発現する可能性がある。

1-4 匂い受容体

1-4-1 嗅覚GCRのクローニングと機能

一般に、cAMPやIP₃のようなセカンドメッセンジャーが機能しているホルモンや神経伝達物質の受容系には、7回膜貫通型の

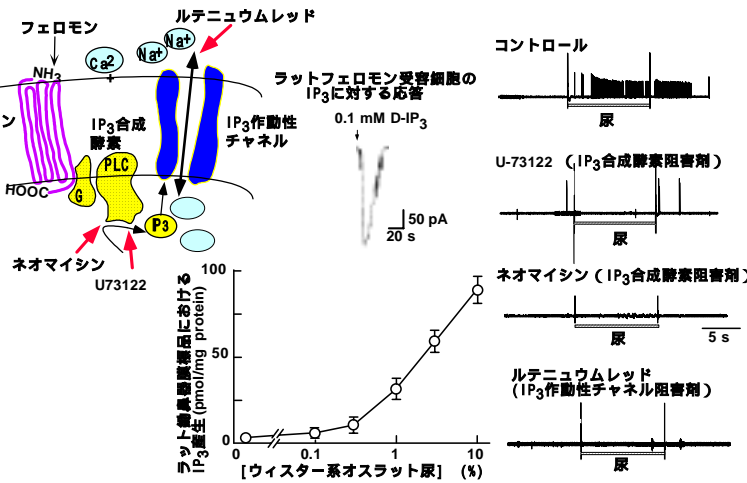
出して作成したりポソームでは、温度の上昇とともに膜流動性が増加した。この膜流動性変化と異性体の識別能の低下との間には良い相関があった。異性体の識別能低下は、膜流動性の増加に寄因するものと思われる。このことは、嗅細胞受容膜の脂質層が匂いの識別に関与していることを示唆している。

一方、匂い物質は、嗅細胞以外の細胞に応答を引き起こす。たとえば、カメの三叉神経は、カメの嗅覚器と同程度の高感度で、各種の匂いに応答する⁴⁰⁾。また、カタツムリの巨大細胞⁴¹⁾、神経芽細胞腫⁴²⁾、カエル味細胞^{43, 44)}は、各種の匂いに対して応答する。また、脂質のみから作製したりポソームも、匂いに応答する。ホスファチジルコリンにホスファチジルセリンを混合して作製したりポソームは、カエルやカメの嗅覚器より高感度で匂いにより応答する⁴⁵⁾。これらの結果は、匂い物質が脂質層に結合することにより応答を引き起こすことを示している。単一の嗅細胞が多種類の匂いに応答したことや、異性体の識別能が40°Cで消失したことを考えると、実際の嗅細胞でも匂い分子が脂質層に結合して応答を発現する系が働いている可能性を示唆する。

1-3 高等動物におけるフェロモン受容

以前は昆虫のフェロモンの研究が盛んであったが、最近では脊椎動物とくに哺乳動物のフェロモンが脚光を浴びている。ヒトでもフェロモンが引き起こす生理作用が見いだされ、ドミトリー（寄宿舎）効果と呼ばれる⁴⁶⁾。これは、女子学生が寄宿舎で共同生活していると、彼女らが放出するフェロモンにより月経周期が同期してくる現象をさす。最近、月経周期を延長するフェロモンと短縮するフェロモンがヒトに存在することが明らかになった⁴⁷⁾。これらのフェロモンが、月経周期を同期させると考えられている。

フェロモンは、主として鋤鼻器と呼ばれる器官で受容される。図11で示すように、鋤鼻器は鼻腔内には存在するが、匂いを受容する嗅上皮とは独立している。嗅細胞は嗅繊毛を有するが、フェロモン受容細胞は微絨毛を有している。鋤鼻器は脊椎動物では両生類以上で存在し、魚類には見られない。魚類の嗅上皮には、主にアミノ酸を受容する繊毛をもつ感覚細胞とフェロモンを受容すると想定されている微絨毛を有する感覚細胞が混在している。このようなことから、一般的な化学物質（匂い物質）を受容する嗅覚器とフェロモンを特異的に受容する鋤鼻器は、魚類から両生類に進化するときに独立したものとされる。このために、以下に詳しく述べるように嗅細胞とフェロモン受容細胞の間には共通する部分が存在する。フェロモンが嗅覚器ではなく鋤鼻器で受容されることは、鋤鼻器を除去するとフェロモンの作用が消失するという実験で示されている^{48, 49)}。たとえば、メスラットを終日光を照射している条件で飼育すると、排卵周期が停止する。また、エストラジオールを投与しても、排卵周期が消失する。排卵周期が停止したラットにフェロモンを含むオスの尿を呈示すると、排卵が誘発される。この際に、フェロモンを受容している鋤鼻器を閉じたり除去すると、尿を呈示しても排卵周期は戻らない。また、爬虫類でもフェロモンが重要な働きをしている。ガーターヘビのオスは、メスから分泌される誘因物質を鋤鼻器で感知して、



メスから分泌される誘因物質を鋤鼻器で感知して、一匹のメスに群がり生殖を行う。脊椎動物におけるフェロモン受容のしくみの解明は、まず、爬虫類を用いて行われた。

図 12 ラットにおける IP₃ を介したフェロモン受容^{56, 61, 62)}

一匹のメスに群がり生殖を行う。脊椎動物におけるフェロモン受容のしくみの解明は、まず、爬虫類を用いて行われた。

1-3-1 フェロモン応答の発生機構

Halpernのグループは、餌から分泌されるガーターヘビの誘引物質（正式にはフェロモンではないが、鋤鼻器を介して受容される）を単離・精製し、その物質が糖蛋白質であることを明らかにしてES20と命名した⁵⁰⁾。ES20は、ヘビ鋤鼻器上皮標品のIP₃濃度をGTP依存的に増加させ、cAMP濃度を減少させた⁵¹⁾。カメの鋤鼻器感覚上皮から調製した膜標品は、嗅上皮と同程度のホルスコリンあるいはGTP感受性を有するアデニル酸シクラーゼ活性が存在した¹²⁾。また、筆者らが、カメのフェロモン受容細胞にcAMPあるいはIP₃を投与したところ、興奮性の電流応答が生じた^{52, 53)}。これらの結果から、爬虫類ではフェロモンに対する応答は、cAMPやIP₃を介して発現している可能性がある。

哺乳動物のフェロモン受容細胞の情報変換機構は、カメのフェロモン受容細胞や多くの動物の嗅細胞のそれとはやや異なっている。嗅細胞にはcAMP作動性チャネルのタイプIサブユニットとタイプIIサブユニットが存在し、機能的なチャネルを形成している。マウスのフェロモン受容細胞にはタイプIIサブユニットしか存在しない⁵⁴⁾。一般に、タイプIIのみでは、機能的なチャネルを構成しないとされている。事実、マウスの受容細胞にcAMPを注入しても応答は見られなかった。

動物で用いられているフェロモンは、一種類ではない。尿の中には、さまざまなフェロモンが含まれている。オスラットの尿の中には、先に述べたような排卵周期の復活を引き起こすフェロモンが存在する⁴⁹⁾。メスラットを高密度で飼育すると、発情が停止してしまうが、これはメスラット尿中には発情を停止させるフェロモンが存在しているためである⁵⁵⁾。このような現象の発現にcAMPが関与しているかが調べられた。オスおよびメスのウイスター系ラットの尿およびオスのドンリュウ系ラット尿は、メスのウイスター系ラット鋤鼻器感覚上皮の膜標品のcAMPの産生を引き起こさなかった⁵⁶⁾。また、ヘビの誘引物質やマウスでみられる揮発性の2種類のフェロモン（デヒドロプレビコミンとブチルジヒドロチアゾール）はGTP依存的にcAMP濃度を減少させることが報告されている⁵⁷⁾。しかしながら、フェロモンの一次中枢の副嗅球で神経細胞の指標となるFos蛋白質の発現の変化を調べると、これらの揮発性の2種類のフェロモン

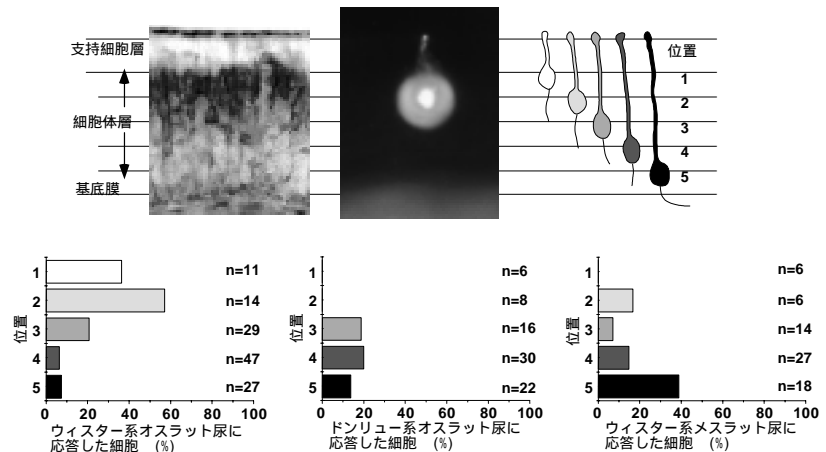


図 14 鋤鼻器感覚上皮に層状に存在する異なるフェロモン応答性を有する感覚細胞。感覚上皮細胞体層の上部に存在する抗 G_i抗体陽性細胞(a)。蛍光色素を注入したウイスター系オスラットの尿に反応した細胞(b)。感覚細胞内での位置と3種類の尿に対する応答(稲村ら、未発表)。

を与えてもFosのmRNAの発現量が増えなかったことから、中枢に情報が伝えられないことを示している⁵⁸⁾。これらの結果は、cAMPカスケードに関連した分子が哺乳動物の鋤鼻器感覚細胞にも存在するが、フェロモン受容における主要な情報伝達経路には寄与しないことを示唆している。

哺乳動物の場合、フェロモンの受容にIP₃がセカンドメッセンジャーとして関与している可能性が高い。ハムスターでは腺分泌液から精製されたフェロモン(アホロディン)⁵⁹⁾が、ブタでは精液中のフェロモン⁶⁰⁾が、鋤鼻器感覚上皮の膜標品のIP₃産生を促進することが報告されている。また、オスウィスター系ラットの尿をメスウィスター系ラット鋤鼻器感覚上皮の膜標品に与えると、濃度依存的なIP₃の産生が見られる(図12)。メスウィスター系ラットの尿およびオスドリュウ系ラットの尿も、IP₃の産生を引き起こした⁶¹⁾。フェロモンを含む尿を鋤鼻器感覚細胞に与えると、神経にインパルスが発生する。ホスホリパーゼCの阻害剤であるU73122とネオマイシンは、ともに尿フェロモンが引き起こす応答を阻害した⁶¹⁾。また、ラット鋤鼻器感覚細胞にcAMPを注入しても応答は現れないが、IP₃を注入すると興奮性の電気的な応答が発生する⁶²⁾。IP₃に由来する電流応答を阻害するルテニウムレッドを投与すると、尿中フェロモンに対する応答は抑制された。これらの結果は、ラットにおいては、フェロモンがIP₃の産生を引き起こし、IP₃依存性チャンネルを開閉させることにより脱分極を生じさせることを示唆した。

1-3-2 フェロモンの識別機構

メスラットの鋤鼻器感覚細胞に、オスとメスのウィスター系ラットとオスドリュウ系ラットの尿を与えて個々の細胞の応答選択性を調べた。図13に示すように、一つの細胞は、3種類の尿の中の一つの尿にのみ応答した。このように、鋤鼻器感覚細胞の選択性は、嗅細胞と比べて非常に高い。フェロモンの場合には、受け取った情報が妊娠の中止などの重篤な変化を引き起こすために、その情報は厳密に識別されることが必要と思われる。一方、匂いの受容で述べたように、個々の嗅細胞は多種類の匂い物質を受容している。これは、多種多様に存在する匂い物質を受容するのに適している。

先に述べたように、フェロモン応答の発現には、嗅細胞と同様にIP₃がセカンドメッセンジャーとして関与していることが考えられる。DulacとAxelは、ラットの鋤鼻器から鋤鼻器に特異的に発現している受容体(鋤鼻器GCR)をクローニングした⁶³⁾。この受容体ファミリーは、100個近い遺伝子から構成されていると考えられている。また、1から4%の確率で発現していることから、一つの感覚細胞には一種類の鋤鼻器GCRが発現していると推定されている。

フェロモンによりIP₃が産生されるためには、GTP結合タンパク質を介することが必要となる。Halpernの研究グループは、ラットやマウスなどの鋤鼻器感覚上皮内でのGTP結合蛋白質の分布を解析した。その結果、感覚上皮内の感覚細胞が存在する層の上部ではG_iを有する細胞が存在し、下部ではG_oを有する細胞が存在していた(図14)⁶⁴⁾。In situ hybridization法による解析から、鋤鼻器GCRはG_iを発現している細胞が局在している感覚上皮の上部の感覚細胞に発現していることが示された。また、マウスやラットの鋤鼻器から、通常GCRよりも細胞外に露出しているN-末端側の構造が長い受容体ファミリーがクローニングされた(鋤鼻器GCR-L)。このタイプの受容体は、G_oを発現している細胞が存在している感覚上皮の下部に存在する細胞に局在していた⁶⁵⁻⁶⁷⁾。

各種尿フェロモンに対して、感覚上皮内のどの位置にある細胞が電気的な応答を示すが調べられた。この結果、図14に示すように、鋤鼻器GCRやGTP結合蛋白質に対応するように層状に存在している。すなわち、オスのウィスター系ラットの尿は、メスの感覚上皮の上部に存在しているG_iを発現している感覚細胞に応答を引き起こした。また、ドリュウ系オスラットおよびウィスター系メスラットの尿は、感覚上皮の下部に存在するG_oを発現している感覚細胞に応答を引き起こした。このように、個々の感覚細胞は、尿フェロモンに高い選択性を示すだけでなく、感覚上皮内での分布も局在化している。

まとめ

鼻腔には、2種類の嗅覚器が存在している。嗅覚器は、多種多様な匂いを受容している。一つの嗅細胞は一種類の嗅覚GCRしかもっていないが、構造の異なる多種類の匂いに応答する。嗅細胞の情報変換には、cAMPやIP₃などのセカンドメッセンジャーを介する経路と、セカンドメッセンジャーを介さない経路が関与している。一方、フェロモンを受容する鋤鼻器感覚細胞は、高い特異性を有する。個々のメスラット鋤鼻器感覚細胞は、特定の尿フェロモンにしか応答しない。哺乳動物の鋤鼻器感覚細胞では、IP₃がセカンドメッセンジャーとして働いている。

謝辞 本小論をまとめるにあたり、貴重な助言を数多く与えてくださいました栗原堅三教授に深く感謝します。

引用文献

- 1) 高木貞敬、渋谷達明編、“匂いの科学”朝倉書店(1989)
- 2) M.Kashiwayanagi and K.Kurihara, *Prim. Sensory Neuron*, **1**, 311 (1996)
- 3) N.Koyama and K.Kurihara, *Nature*, **236**, 402 (1972)
- 4) M.Taniguchi, M.Kashiwayanagi, and K.Kurihara, *Am. J. Physiol.*, **262**, R99 (1992)
- 5) T.Hanada, M.Kashiwayanagi, and K.Kurihara, *Am. J. Physiol.*, **266**, R1816 (1994)
- 6) M.Kashiwayanagi, K.Sasaki, A.Iida, H.Saito, and K.Kurihara, *Chem. Senses*, **22**, 553 (1997)
- 7) K.Kurihara and N.Koyama, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **48**, 30 (1972)
- 8) U.Pace, E.Hanski, Y.Salomon, and D.Lancet, *Nature*, **316**, 255 (1985)
- 9) P.B.Sklar, R.R.H.Anholt, and S.H.Snyder, *J. Biol. Chem.*, **261**, 15538 (1986)
- 10) H.Breer and I.Boekhoff, *Chem.Senses*, **16**, 19 (1991)
- 11) E.Fabbri, M.E.Ferretti, M.Buzzi, R.Cavallaro, G.Vesce, and C.Biondi, *Neurochem. Res.*, **20**, 719 (1995)
- 12) K.Okamoto, Y.Tokumitsu, and M.Kashiwayanagi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **220**, 98 (1996)
- 13) 鈴木教世, 日本味と匂のシンボジウム論文集, **20**, 37 (1986)
- 14) T.Nakamura and G.H.Gold, *Nature*, **325**, 442 (1987)
- 15) T.Kurahashi, *J. Physiol.*, **430**, 355 (1990)
- 16) D.Restrepo, J.H.Teeter, E.Honda, A.G.Boyle, J.F.Marecek, G.D.Prestwich, and D.L.Kalinoski, *Am. J. Physiol.*, **263**, C667 (1992)
- 17) M.Kashiwayanagi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **225**, 666 (1996)
- 18) T.Margalit and D.Lancet, *Dev. Brain Res.*, **7**, 37 (1993)
- 19) R.C.Gesteland, R.A.Yancey, and A.I.Farbman, *Neuroscience*, **7**, 3127 (1982)
- 20) M.Kashiwayanagi, H.Kawahara, T.Hanada, and K.Kurihara, *J. Gen. Physiol.*, **103**, 957 (1994)
- 21) M.Kashiwayanagi and K.Kurihara, *Neurosci. Lett.*, **193**, 61 (1995)
- 22) L.J.Brunet, G.H.Gold, and J.Ngai, *Neuron*, **17**, 681 (1996)
- 23) L.Belluscio, G.H.Gold, A.Nemes, and R.Axel, *Neuron*, **20**, 69 (1998)
- 24) H.Breer, T.Klemm, and I.Boekhoff, *Neuroreport*, **3**, 1030 (1992)
- 25) L.Buck and R.Axel, *Cell*, **65**, 175 (1991)
- 26) J.Ngai, M.M.Dowling, L.Buck, R.Axel, and A.Chess, *Cell*, **72**, 657 (1993)
- 27) K.Raming, J.Krieger, J.Strotmann, I.Boekhoff, S.Kubick, C.Baumstark, and H.Breer, *Nature*, **361**, 353 (1993)
- 28) P.Mombaerts, F.Wang, C.Dulac, S.K.Chao, A.Nemes, M.Mendelsohn, J.Edmondson, and R.Axel, *Cell*, **87**, 675 (1996)
- 29) K.Imamura, N.Mataga, and K.Mori, *J. Neurophysiol.*, **68**, 1986 (1992)
- 30) V.P.Duchamp, A.Duchamp, and G.Sicard, *Brain Res.*, **517**, 256 (1990)
- 31) M.Kashiwayanagi, K.Shimano, and K.Kurihara, *Brain Res.*, **738**, 222 (1996)
- 32) M.Kashiwayanagi and K.Kurihara, *Neurosci. Lett.*, **170**, 233 (1994)
- 33) J.Kang and J.Caprio, *J. Neurophysiol.*, **73**, 172 (1995)
- 34) T.Tanabe, M.Iino, and S.F.Takagi, *J. Neurophysiol.*, **38**, 1284 (1975)
- 35) F.Motokizawa, *Exp. Brain Res.*, **112**, 24 (1996)
- 36) J.Kang and J.Caprio, *J. Neurophysiol.*, **74**, 1421 (1995)
- 37) R.W.Friedrich and S.I. Korsching, *Neuron*, **18**, 737 (1997)
- 38) J.Joerges, A.Köttner, C.G.Galizia, and R.Menzel, *Nature*, **387**, 285 (1997)
- 39) E.E.Fesenko, V.I.Novoselov, and M.F.Bystrova, *Biochim. Biophys. Acta*, **937**, 369 (1988)
- 40) D.Tucker, “*Olfaction and Taste*” Vol. 1, Pergamon Press, Oxford, (1963) p.45
- 41) A.Arvanitaki, H.Takeuchi, and N.Chalazonitis, “*Olfaction and Taste*” Vol. II, Pergamon Press, Oxford, (1967) p.573
- 42) M.Kashiwayanagi and K.Kurihara, *Brain Res.*, **293**, 251 (1984)
- 43) T.Kashiwagura, N.Kamo, K.Kurihara, and Y.Kobatake, *Comp. Biochem. Physiol.*, **56C**, 105 (1977)
- 44) M.Kashiwayanagi, K.Yamada, and K.Kurihara, *Comp. Biochem. Physiol.*, **108A**, 479 (1994)
- 45) S.Enomoto, M.Kashiwayanagi, and K.Kurihara, *Biochim. Biophys. Acta*, **1062**, 7 (1991)
- 46) M.K.McClintock, *Nature*, **229**, 244 (1971)
- 47) K.Stern and M.K.McClintock, *Nature*, **392**, 177 (1998)
- 48) M.A.Johns, H.H.Feder, B.R.Komisaruk, and A.D.Mayer, *Nature*, **272**, 446 (1978)
- 49) O.A.Mora and M.M.Cabrera, *Life Sci.*, **60**, 493 (1997)
- 50) X.C.Jiang, J.Inouchi, D.Wang, and M.Halpern, *J. Biol. Chem.*, **265**, 8736 (1990)
- 51) Y.Luo, S.Lu, P.Chen, D.Wang, and M.Halpern, *J. Biol. Chem.*, **269**, 16867 (1994)
- 52) M.Taniguchi, M.Kashiwayanagi, and K.Kurihara, *J. Neurosci.*, **16**, 1239 (1996)
- 53) M.Taniguchi, M.Kashiwayanagi, and K.Kurihara, *Neurosci. Lett.*, **188**, 5 (1995)
- 54) E.R.Liman and L.B.Buck, *Neuron*, **13**, 611 (1994)
- 55) M.K.McClintock, *Horm. Behav.*, **10**, 264 (1978)
- 56) 佐々木一代, 岡本貴世子, 柏柳誠, 栗原堅三, 日本味と匂学会誌, **4**, 585 (1997)
- 57) A.W.Zhou and R.L.Moss, *Neuroreport*, **8**, 2173 (1997)
- 58) J.Guo, A.Zhou, and R.L.Moss, *Neuroreport*, **8**, 1679 (1997)
- 59) C.Kroner, H.Breer,

A.G.Singer, and R.J.O'Connell, *Neuroreport*, **7**, 2989 (1996) 60) K.S.Wekesa and R.R.H.Anholt, *Endocrinology*, **138**, 3497 (1997) 61) K.Inamura, M.Kashiwayanagi, and K.Kurihara, *Neurosci. Lett.*, **233**, 129 (1997) 62) K.Inamura, M.Kashiwayanagi, and K.Kurihara, *Chem. Senses*, **22**, 93 (1997). 63) C.Dulac and R.Axel, *Cell*, **83**, 195 (1995) 64) C.P.Jia CP and M.Halpern, *Brain Res.*, **719**, 117 (1996) 65) H.Matsunami and L.B.Buck, *Cell*, **90**, 775 (1997) 66) N.J.P.Ryba and R.Tirindelli, *Neuron*, **19**, 371 (1997). 67) G.Herrada. and C.Dulac, *Cell*, **90**, 763 (1997)