ミトコンドリアペプチドが系統認識の手がかりとなる匂いとして機能

概要

高知大学医学部生理学講座（統合生理学）の椛秀人特任教授らは、デューク大学メディカルセンターの松波宏明教授との共同研究により、ミトコンドリアゲノムにコードされたNADH脱水素酵素1と2のN末端部のアミノ酸配列が近交系マウスの系統間で変異しており、その変異ペプチドが匂い手がかりとなり、系統（野生では個体）認識がなされることを、交配雌が交尾相手以外の別系統の雄に曝露されると流産するという神経内分泌反応（ブルース効果）を用いて証明した。さらに、正逆交雑により得られた雑種第一代の雄とその尿を用いて、ブルース効果が母性遺伝し、その有効成分が尿に含まれていることを明らかにした。動物の体内にはミトコンドリアがユビキタスに存在することから、マウス以外の動物や人のミトコンドリアペプチドの嗅覚コミュニケーションにおける役割の解明が期待される。

この研究成果は、米国科学アカデミー紀要「*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*」に掲載されるのに先立ち、11月16日付けでオンライン公開されました。

詳細

　多くの哺乳動物で個体は、同種の他個体から発せられた「匂い（化学感覚シグナル）」を検知して個体を認識している。この個体認識は、母子間の絆、配偶者認識、近親交配の回避など、多くの社会行動に必須である。個体から発せられた揮発性分子と不揮発性ペプチドの両者が嗅粘膜と鋤鼻器の嗅細胞で検知される。こうした個体認識にどのような匂い分子が関わるのかほとんどわかっていない。私たちは、個体認識に役割を果たし得る新規の匂い分子としてミトコンドリアゲノムにコードされた呼吸鎖酵素の遺伝子多型に着目した。ND1ペプチドはNADH脱水素酵素 1のN末端から9つのアミノ酸残基f-MFFINXLTLであり、第6番目のアミノ酸残基が系統間で異なり、アラニン（A）かイソロイシン（I）、スレオニン（T）、バリン（V）のいずれかである（Aの場合、ND1-6Aと略称する）。ND2ペプチドもNADH脱水素酵素2のN末端から9つのアミノ酸残基f-MNPITLXIIの第7番目のアミノ酸残基がAかTである（Tの場合、ND2-7Tと略称する）。ND1ペプチドもND2ペプチドもミトコンドリアゲノムにコードされているため、母性遺伝し、またN末端のメチオニンがホルミル化されている。私たちは、これらのペプチドが体外に分泌され、個体認識の手がかりとなる匂い分子として機能するとの仮説を設定し、鋤鼻系の働きで惹起される系統特異的流産現象（ブルース効果）を用いてその仮説の検証を行った。

　雌マウスを雄と交尾させ（交尾時の曝露）、24時間後に再び交配雄に曝露させても（2日間、テスト曝露）流産は起こらないが、交配雄とは別系統の馴染みのない雄に曝露させると流産が起こる。テスト曝露で交配雄が流産を起こさないのは、交尾を引き金として雌が交配雄の系統を認識記憶することで交配雄の流産誘起シグナルを中枢（副嗅球）で抑制することによる。

（１）ND1ペプチドとND2ペプチドのアミノ酸配列が異なるBALB/cとNZBとの間でブルース効果が惹起される

　主要組織適合遺伝子複合体（MHC）パプロタイプ抗原について、BALB/cはH-2dハプロタイプを有するのに対し、C57/BL6はH-2bハプロタイプを有する。このようにH-2ハプロタイプが異なる交配雄と曝露雄の間でブルース効果が惹起されることが判明している。このH-2ハプロタイプ以外のファクターとして、H-2ハプロタイプが共通で、ND1ペプチドとND2ペプチドのアミノ酸配列が異なるBALB/cとNZBとの間でブルース効果が惹起されるか否かを検討した。BALB/c雌をBALB/c雄と交尾させ、翌日から2日間NZB雄に曝露させたところ、ブルース効果が惹起された。この効果はNZB雄の尿でも、さらにはNZB雌の尿でも再現された。本結果は、ND1ペプチドとND2ペプチドがブルース効果を引き起こす匂い分子となり得ることを示唆している。

（２）脱ホルミル化されたND1ペプチドとND2ペプチドへの曝露によりブルース効果が惹起される

　BALB/c雌マウスをBALB/c雄と交尾させ、翌日から2日間の間に8回ペプチド溶液（50 µM）を口鼻溝に滴下してペプチドへの曝露を行った。6種類のホルミルペプチド（ND1-6I、ND1-6A、ND1-6V、ND1-6T、ND2-7A、ND2-7T）はどれもブルース効果を起こさなかったが、脱ホルミル化されたペプチドのうち非自己のペプチド（ND1-6A、ND1-6V、ND1-6T、ND2-7T）は程度を異にしてブルース効果を惹起した。特にND1-6AとND2-7Tによって有意に高い流産率が得られた。ND1-6Aの効果には濃度依存性が確認された。また、ND1-6Aの効果は、すでにブルース効果を有することが示されているH-2bハプロタイプのMHCペプチドリガンドAAPDNRETFと同程度の強さであった。ND1-6Aのアミノ酸配列をランダムに並び替えたスクランブルペプチドは無効であった。本結果は、（１）の成果を一歩掘り下げ、脱ホルミル化されたND1ペプチドとND2ペプチドがブルース効果を引き起こす匂い分子であることを強く示唆するとともに、単一アミノ酸残基の違いが鋤鼻系で明確に識別されることを示している。

（３）雌マウスは交配雄のミトコンドリアペプチドの記憶を形成する

　ミトコンドリアペプチドが尿などを介して体外に分泌されているか否か、もしミトコンドリアペプチドが尿などに自然に分泌されていると、BALB/c雌はNZB雄との交尾のときにNZBのペプチドを嗅いで記憶し、そのペプチドを馴染みなものと認識することでNZBのペプチド（ND1-6A）に反応しなくなるはずである。この点を行動実験で実証するため、BALB/c雌マウスをNZB雄と交尾させ、翌日から2日間の間に8回ND1-6A（50 µM）を口鼻溝に滴下してペプチドへの曝露を行ったところ、ND1-6Aはもはや流産を惹起しなかった。この結果は、BALB/c雌はNZB雄との交尾のときにNZBから分泌されたND1-6Aを嗅いで記憶し、そのペプチドを馴染みなものと認識することで流産を回避したことを示唆している。

（４）ブルース効果は母性遺伝する

　ミトコンドリアゲノム由来のペプチドでブルース効果が起これば、ブルース効果にも母性遺伝が観察されることが期待される。そこで、BALB/cとNZBの正逆交雑により雑種第一代（F1）を得、その雄の流産誘起作用を検討した。BALB/c雄と交尾したBALB/c雌はBALB/cとNZBのF1の雄の母親がBALB/cではなくNZBの時に高い流産率を示した。この効果はF1の雄の尿でも再現された。すなわち本結果は、ブルース効果が母性遺伝し、その有効成分が尿に含まれていることを示している。

　本研究により、ミトコンドリアゲノム由来の脱ホルミル化されたND1ペプチドとND2ペプチドが体外に分泌され個体認識の手がかりとなる匂い分子として機能していることが明らかとなった。動物の体内にはミトコンドリアがユビキタスに存在することから、マウス以外の動物や人のミトコンドリアペプチドの嗅覚コミュニケーションにおける役割の解明が期待される。