

# 論文内容要旨

ニオイ成分の鼻腔内代謝における  
アルデヒド酸化酵素の寄与

主指導教員：古武 弥一郎教授  
(医系科学研究科 生体機能分子動態学)

副指導教員：熊本 卓哉教授  
(医系科学研究科 創薬合成化学)

副指導教員：熊谷 孝則准教授  
(医系科学研究科 微生物医薬品開発学)

高岡 尚輝

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 【序論】

ヒトを含む哺乳動物が感じる匂いは、鼻腔内の嗅上皮 (olfactory epithelium: OE) において空気中のニオイ成分が嗅細胞に認識されることで生じる。嗅覚系においてこの匂いセンサーの役割を担う嗅上皮には、薬物代謝酵素が数多く発現することが知られている。一般的に、ニオイ成分は、エステル、アルデヒドなどの典型的な化学構造を有する揮発性有機化合物であり、嗅上皮に発現する薬物代謝酵素は鼻腔内局所においてニオイ成分を代謝し、匂いの知覚に関与する可能性がある。実際、benzaldehyde や *n*-octanal などのアルデヒド基を有するニオイ成分がマウスの鼻腔内において酸化、還元されることが報告されている (Nagashima and Touhara, *J. Neurosci.*, 2010)。しかし、どの薬物代謝酵素がこのようなアルデヒド基を有するニオイ成分の代謝に関与しているのか、その責任代謝酵素は未解明なままである。

一方で、幅広いアルデヒドの酸化反応を担う薬物代謝酵素にアルデヒド酸化酵素 (AOX) がある。マウスなどのげっ歯類には AOX1, AOX2, AOX3 および AOX4 分子種が発現しており (Terao *et al.*, *Arch. Toxicol.*, 2016)、そのうち AOX2 がマウスの嗅上皮に局在することが知られている (Kurosaki *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2004)。そのため、この AOX2 がアルデヒドニオイ成分の鼻腔内代謝に関与する可能性が考えられた。そこで本研究では、アルデヒドニオイ成分の代謝変換におけるマウス嗅上皮に発現する AOX の寄与について検討した。

## 【結果および考察】

### 1. マウス嗅上皮におけるアルデヒドニオイ成分の酵素的代謝反応

C57BL/6 系統マウスから単離した嗅上皮の 9000 g 上清画分 (S9) を調製し、6 種類の芳香族および脂肪族のアルデヒド基を有するニオイ成分 (benzaldehyde, vanillin, 4-hydroxy-3-methylbenzaldehyde, heptanal, *n*-octanal, *trans*-2-octenal) と反応させた際のカルボン酸代謝物生成を LC-MS/MS により定量評価した。その結果、検討したいずれのアルデヒドも嗅上皮において酸化反応が生じ、この酸化反応は、嗅上皮 S9 の熱処理 (99°C, 5 分) によりいずれも顕著に抑制された。この結果より、マウス嗅上皮は幅広いアルデヒドニオイ成分の酵素的な酸化活性を有することが示された。

### 2. マウス嗅上皮の AOX 発現プロファイルと基質特異性

C57BL/6 系統マウスの嗅上皮における AOX1, AOX2, AOX3, AOX4 の mRNA およびタンパク質発現を評価した。その結果、マウス嗅上皮には AOX2 に加えて AOX3 もまた発現することが明らかになった。次に、AOX2 と AOX3 の精製酵素と上記 6 種類のアルデヒドニオイ成分を反応させたところ、両 AOX 分子種はいずれのアルデヒドに対しても酸化活性を示した。以上の結果より、上記のマウス嗅上皮におけるアルデヒドニオイ成分の酸化代謝に AOX2 と AOX3 が関与する可能性が示唆された。

### 3. AOX2 および AOX3 特異的阻害剤の探索

以前の報告より 11 種類の候補化合物を選定し、これらが AOX2 および AOX3 による vanillin の酸化反応に及ぼす阻害効果を評価した。その結果、menadione, norharmane, raloxifene は AOX2 と AOX3 の両分子種を強力に阻害し、17 $\beta$ -estradiol は AOX2 を特異的に阻害し、chlorpromazine は AOX3 を特異的に阻害することを見出した。

### 4. マウス嗅上皮のアルデヒドニオイ成分の酸化代謝における AOX の寄与

マウス嗅上皮でのアルデヒドニオイ成分の酸化代謝に AOX がどの程度寄与するのかを調べるために、AOX2 および AOX3 阻害剤の添加がマウス嗅上皮における 6 種類のアルデヒドの酸化反応にどのような影響を与えるかを評価した。その結果、menadione, norharmane, raloxifene の添加は、今回検討した 6 種類の芳香族および脂肪族アルデヒド全ての酸化反応を 75~95% 程度抑制した。30  $\mu$ M の 17 $\beta$ -estradiol の前処置は脂肪族および芳香族アルデヒドの酸化を約 10~30% 抑制した一方で、30  $\mu$ M chlorpromazine は上記アルデヒドの酸化反応を約 30~60% 抑制した。以上より、マウス嗅上皮におけるアルデヒドニオイ成分の酸化反応には AOX2 および AOX3 が一定以上寄与することが示された。また、17 $\beta$ -estradiol よりも chlorpromazine の方がアルデヒド酸化反応を強く阻害したため、今回検討したニオイ成分については、AOX2 よりも AOX3 の方がやや支配的であることが示唆された。

#### **【総括】**

本研究により、マウス嗅上皮に発現する AOX2 および AOX3 は、幅広いアルデヒドを有するニオイ成分の酸化代謝に寄与することが明らかとなった。例えば、vanillin はその酸化代謝物である vanillic acid と異なる嗅覚受容体の活性化パターンを示すことが報告されている (Katada *et al.*, *J. Neurosci.*, 2005)。そのため、このような嗅上皮の AOX によるニオイ成分の鼻腔内代謝がアルデヒド基を有するニオイ成分の匂いの質や強度を決定する要因となる可能性がある。

匂いの知覚にはヒトや動物において個体差がある。今後、AOX を含めた嗅上皮に発現する薬物代謝酵素とニオイ成分の知覚の関係性を明らかにすることは、匂いの感受性を理解する上で重要な知見となる。