

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（薬学）	氏名	高岡 尚輝
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ① 2 項該当		
論文題目			
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			
論文審査担当者			
主査	教授	野村 涉	印
審査委員	教授	森岡 徳光	
審査委員	准教授	高橋 陵宇	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>ヒトを含む哺乳動物が感じる匂いは、鼻腔内の嗅上皮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 <i>n</i>-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, <i>J. Neurosci.</i>, 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。</p> <p>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 分子種が発現する (Terao <i>et al.</i>, <i>Arch. Toxicol.</i>, 2016)。そのうち AOX2 はマウスの嗅上皮に局在することが知られており (Kurosaki <i>et al.</i>, <i>J. Biol. Chem.</i>, 2004)、ニオイ成分の代謝に関与する可能性が考えられた。そこで本研究では、嗅上皮におけるアルデヒド基を有するニオイ成分の代謝変換に AOX が関与する可能性について検討した。</p> <p>まず初めに、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, <i>n</i>-octanal, <i>trans</i>-2-octenal) と反応させた際のカルボン酸代謝物生成を定量評価した。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。次に、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。次に、以前の報告を参考に 11 種類の阻害剤を選定し、これらの AOX2 および AOX3 による vanillin 酸化反応に対する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、17β-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。そこで、マウス嗅上皮でのアルデヒドニオイ成分の酸化反応に AOX がどの程度寄与するのかを評価するため、今回見出した AOX2 および AOX3 阻害剤がマウス嗅上皮におけるアルデヒドの酸化反応に与える影響を評価した。その結果、menadione, norharmane, raloxifene の添加は、今回検討した芳香族および脂肪族アルデヒド全ての酸化反応を 75～</p>			

95%程度抑制した。また、 17β -estradiol の前処置は上記のアルデヒド酸化を約 10~30%抑制し、chlorpromazine は上記のアルデヒド酸化反応を約 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、 17β -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。

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示された。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。また医薬品の副作用の一つに嗅覚障害が存在する (Lötsch *et al.*, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2012)。本研究においてマウス嗅上皮の AOX 活性を阻害した raloxifene などは医薬品である。このような医薬品による薬物代謝酵素の阻害がヒトの嗅上皮で生じる場合、嗅上皮におけるニオイ成分の代謝が低下し、嗅覚系に何らかの影響が生じる可能性も想定される。このことから、本研究により見出された嗅上皮での薬物代謝酵素によるニオイ成分の代謝という現象は、医薬品による嗅覚障害という副作用の発生メカニズムの一端を説明できることが期待される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（薬学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。