

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：82406

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16441

研究課題名(和文) 腋臭症リスク決定因子の機能阻害剤ならびに生理的基質の探索・評価

研究課題名(英文) Exploring of inhibitors for axillary osmidrosis risk factor and its physiological role

研究代表者

豊田 優 (Toyoda, Yu)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・分子生体制御学・助教)

研究者番号：80650340

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ワキの下から生じる特有のにおいを特徴とする腋臭症は、日本社会では特に嫌われる傾向にある疾患であり、その克服に向けた国民的関心も高く、より簡便かつ根本的な治療法の確立が喫緊の課題である。そこで本研究では、将来的な腋臭症治療薬の実現につながることを期待して、既存の承認薬から腋臭症リスク決定因子の阻害剤を探索することを目的とした。さらに、研究の発展に伴い、天然物にも着目した検討を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、既存薬や天然成分の中から、腋臭症の表現型決定因子のひとつであるATP-binding cassette transporter sub-family C member 11 (ABCC11) の阻害剤を見出すことに成功した。得られた成果は、ヒトの体臭・腋臭症研究の発展に貢献するものと考えられる。また、本研究を通じて、膜輸送体(トランスポーター)に着目したヒトの体質・疾患リスクという観点からも興味深い知見が得られたと考えられ、今後のさらなる研究の発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：Humans produce body odor like other animals. Nonetheless, in human culture, strong or specific body odors are sometimes perceived as undesirable. Among them, axillary osmidrosis is a chronic skin condition characterized by unpleasant body odors and excessive sweating from the armpits. As is often the case in Asian countries such as Japan, in which people with strong body odor comprise a minor section of the population, axillary osmidrosis tends to be more strongly disliked and is recognized as a disease. However, except for surgical treatments, there has been no causal therapy for axillary osmidrosis. Thus, in this study, we explored inhibitors for an axillary osmidrosis risk factor.

研究分野：疾患生命科学

キーワード：トランスポーター 腋臭症 体質 ドラッグリポジショニング 健康科学 栄養

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ワキの下から生じる特有のにおいを特徴とする腋臭症は、ワキガとして知られる。この体質は、日本社会では特に嫌われる傾向にある疾患であり、その克服に向けた国民的関心も高く、より簡便かつ根本的な治療法の確立が求められている。この課題の解決への貢献を目的とする本研究は、将来的な腋臭症治療薬の実現につながることを期待して、腋臭症リスクを決定する遺伝子の機能を阻害する物質を探索する実験的なアプローチを中心として企画されたものである。研究開始までに研究代表者らは、ATP-binding cassette transporter sub-family C member 11 (ABCC11、別名 MRP8) が腋臭症表現型の決定因子であり、遺伝子多型による機能欠損が腋臭の原因物質の分泌に関わるアポクリン腺の分泌欠損表現型(腋臭症リスク無し)に対応することを見出してきた。以上の背景を踏まえ、ABCC11 に着目した検討を中心として本研究を進めることとした。

### 2. 研究の目的

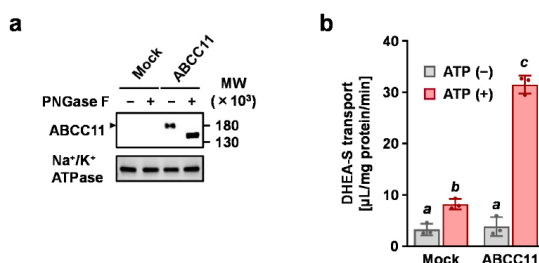
(1) 本研究の開始時点において、研究代表者らの知る限り、ABCC11 の機能を阻害する薬物については報告がなかった。そこで、得られる成果がドラッグリポジショニング候補物質の獲得につながる可能性を見据え、ヒトへの安全性が高い既存の承認薬に着目し、ABCC11 阻害薬を探索することを本研究の目的とした。

(2) 上述した検討を進める過程で、後述する一定の成果が見出され、大きな反響も得られた。そこで、天然物(主に食品中に含まれるもの)から ABCC11 阻害成分を探索することも本計画の新たな目的のひとつに加えた。本項目は、当初の研究計画項目には含まれていなかったものの、本研究成果に基づく学術的発展ならびに社会への成果還元という観点から有益であると考えられたため、一部の優先順位を入れ替えて研究を進めることとした。

(3) 本研究では、得られた成果を活用することで ABCC11 の生理的役割に迫るのみならず、膜輸送体(トランスポーター)研究に広く応用可能な技術・研究基盤を形成するという側面も備えていることから、膜輸送体(の機能変動)と関連したヒトの体質・疾患リスクに関する理解を深めることを目的とした取り組みにも成果等を応用していくこともまた、本研究におけるねらいのひとつとした。

### 3. 研究の方法

本研究では、試験薬物ないし食品由来エキス/分画成分による腋臭症リスク決定因子 ABCC11 の機能阻害活性を、ABCC11 発現細胞膜小胞を用いた *in vitro* 試験系で検討した。まず、スクリーニングに必要な ABCC11 発現細胞膜小胞ならびにコントロール膜小胞を同一ロットで確保するために、ABCC11 過剰発現細胞ならびにコントロール細胞を大量培養し、膜小胞調製に供



**Figure 1.** Expression and function of ABCC11. (a) Immunoblot detection of ABCC11 protein in the plasma membrane vesicles using an anti-ABCC11 antibody. Mock means plasma membrane vesicles that were prepared from control cells transfected with an empty pcDNA3.1/hyg(-) vector. Arrowhead: matured ABCC11 as an N-linked glycosylated protein. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase (a plasma membrane protein) was used for a loading control. (b) [1,2,6,7-<sup>3</sup>H(N)]-dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) transport activities. Plasma membrane vesicles were incubated with or without ATP for 5 min. In this assay, all incubation mixtures contained 1% dimethyl sulfoxide (DMSO). Data are expressed as the mean ± SD; *n* = 3. Statistical analyses for significant differences were performed using Bartlett's test, followed by a parametric Tukey-Kramer multiple-comparison test. Different letters indicate significant differences between groups (*p* < 0.05).

した。なお、得られた ABCC11 発現細胞膜小胞は、使用するまで -80 にて保存した。次に、免疫ブロッティングにより目的タンパク質の発現を、放射ラベル基質: [1,2,6,7-<sup>3</sup>H(N)]-dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) を用いた輸送試験により目的タンパク質の機能を、それぞれ確認したのちに阻害試験を実施した(上図: 引用文献 [2] から、CC-BY ライセンスの下に転載)。また、高濃度での阻害スクリーニングを通じて ABCC11 依存的な DHEA-S 輸送に対する強い阻害活性が見出されたものについては、濃度依存性を検討し、50%阻害濃度 (IC<sub>50</sub> 値) を算出した。

#### 4. 研究成果

承認薬を対象とする阻害試験の結果、ABCC11によるDHEA-S輸送活性を阻害する薬物を見出すことに成功した。このうち、高尿酸血症の治療薬として臨床で使用されているフェブキソスタットがABCC11によるDHEA-S輸送を比較的強く阻害することが見出され、濃度依存性を検討したところ、その $IC_{50}$ 値は $3.26\ \mu\text{M}$ であった。なお、この濃度においてABCC11と同じABCCサブファミリーに属するABCC2の輸送活性に対する影響を検討したところ、ABCC11に対する場合とは異なり、同薬物によるABCC2に対する機能阻害活性は認められなかった。関連する成果については、論文発表 [1] および学会発表（豊田優、高田龍平、鈴木洋史；尿酸降下薬フェブキソスタットによる腋臭症リスク因子ABCC11の阻害、第5回トランスポーター研究会関東部会、オンライン開催、2020年11月、優秀発表賞受賞）を行った。

また、食品素材から抽出したエキスを対象としたスクリーニングを行ったところ、終濃度100 ppmにおける阻害実験の結果、大豆エキスにおいて、強いABCC11阻害活性が見出された。そこで、MPLC・リサイクル分取HPLCを用いた活性成分の分離・精製、LC-Q-TOF-MS/MSを用いた構造情報の取得を進めたところ、大豆エキス中のABCC11阻害成分のひとつとしてゲニステインを同定することに成功した。ABCC11依存的なDHEA-S輸送の阻害に関するゲニステインの濃度依存性を検討したところ、 $IC_{50}$ 値は $61.5\ \mu\text{M}$ と算出された。以上の内容は、研究代表者が所属する東京大学医学部附属病院薬剤部とサッポロホールディングス株式会社との共同研究として実施され、関連する成果については論文発表 [2] を行った。

このように本研究では、既存薬や天然成分の中から、腋臭症の表現型決定因子のひとつであるABCC11の阻害剤を見出すことに成功した。今後、ヒトでの検討が進むことが期待される。得られた成果は、ヒト体臭・腋臭症研究の発展に貢献するものと考えられ、現在さらなる検討を進めている。また本研究を通じて、膜輸送体に着目したヒトの体質・疾患リスクという観点からも興味深い知見が得られたと考えられ、今後のさらなる研究の発展が期待される。

#### <引用文献>

- [1] Yu Toyoda\* (Corresponding author), Tappei Takada, and Hiroshi Suzuki. Febuxostat inhibited an axillary osmidrosis risk factor ABCC11 *in vitro*. *Journal of Dermatology* 47:1198-1199, 2020. doi.org/10.1111/1346-8138.15512
- [2] Hiroki Saito#, Yu Toyoda#\* (Co-first author, Corresponding author), Hiroshi Hirata, Ami Ota-Kontani, Youichi Tsuchiya, Tappei Takada, and Hiroshi Suzuki. Soy isoflavone genistein inhibited an axillary osmidrosis risk factor ABCC11: *in vitro* screening and fractional approach for ABCC11-inhibitory activities in plant extracts and dietary flavonoids. *Nutrients* 12(8):2452, 2020. doi.org/10.3390/nu12082452

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Toyoda Yu, Takada Tappei, Suzuki Hiroshi	4. 巻 47
2. 論文標題 Febuxostat inhibited axillary osmidrosis risk factor ATP binding cassette transporter C11 in vitro	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1198 ~ 1199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15512	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Saito Hiroki, Toyoda Yu, Hirata Hiroshi, Ota-Kontani Ami, Tsuchiya Youichi, Takada Tappei, Suzuki Hiroshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Soy Isoflavone Genistein Inhibits an Axillary Osmidrosis Risk Factor ABCC11: In Vitro Screening and Fractional Approach for ABCC11-Inhibitory Activities in Plant Extracts and Dietary Flavonoids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2452 ~ 2452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu12082452	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Toyoda Yu, Kawamura Yusuke, Nakayama Akiyoshi, Nakaoka Hirofumi, Higashino Toshihide, Shimizu Seiko, Ooyama Hiroshi, Morimoto Keito, Uchida Naohiro, Shigesawa Ryuichiro, Takeuchi Kenji, Inoue Ituro, Ichida Kimiyoshi, Suzuki Hiroshi, Shinomiya Nariyoshi, Takada Tappei, Matsuo Hirota	4. 巻 -
2. 論文標題 Substantial anti-gout effect conferred by common and rare dysfunctional variants of URAT1/SLC22A12	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/keab327	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Toyoda Yu, Pavelcova Katerina, Bohata Jana, Jesina Pavel, Kubota Yu, Suzuki Hiroshi, Takada Tappei, Stiburkova Blanka	4. 巻 22
2. 論文標題 Identification of Two Dysfunctional Variants in the ABCG2 Urate Transporter Associated with Pediatric-Onset of Familial Hyperuricemia and Early-Onset Gout	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1935 ~ 1935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22041935	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawamura Yusuke, Toyoda Yu, Ohnishi Takuma, Hisatomi Ryutaro, Higashino Toshihide, Nakayama Akiyoshi, Shimizu Seiko, Yanagi Masato, Kamimaki Isamu, Fujimaru Rika, Suzuki Hiroshi, Shinomiya Nariyoshi, Takada Tappei, Matsuo Hiroataka	4. 巻 59
2. 論文標題 Identification of a dysfunctional splicing mutation in the SLC22A12/URAT1 gene causing renal hypouricaemia type 1: a report on two families	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 3988 ~ 3990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/keaa461	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Toyoda Yu, Takada Tappei, Saito Hiroki, Hirata Hiroshi, Ota-Kontani Ami, Kobayashi Naoyuki, Tsuchiya Youichi, Suzuki Hiroshi	4. 巻 4
2. 論文標題 Inhibitory effect of Citrus flavonoids on the in vitro transport activity of human urate transporter 1 (URAT1/SLC22A12), a renal re-absorber of urate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 npj Science of Food	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41538-020-0063-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Toyoda Yu, Takada Tappei, Yamanashi Yoshihide, Suzuki Hiroshi	4. 巻 18
2. 論文標題 Pathophysiological importance of bile cholesterol reabsorption: hepatic NPC1L1-exacerbated steatosis and decreasing VLDL-TG secretion in mice fed a high-fat diet	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Lipids in Health and Disease	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12944-019-1179-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Toyoda Yu, Pavelcova Katerina, Klein Martin, Suzuki Hiroshi, Takada Tappei, Stiburkova Blanka	4. 巻 21
2. 論文標題 Familial early-onset hyperuricemia and gout associated with a newly identified dysfunctional variant in urate transporter ABCG2	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-019-2007-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 豊田 優, 高田 龍平, 鈴木 洋史
2. 発表標題 尿酸降下薬フェブキソスタットによる腋臭症リスク因子ABCC11の阻害
3. 学会等名 第5回トランスポーター研究会関東部会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 Inhibitor for axillary osmidrosis risk factor	発明者 Yu Toyoda et al	権利者 国立大学法人東京大学
産業財産権の種類、番号 特許、62/890053 (U.S. Provisional)	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 ABCC11阻害剤	発明者 豊田優, 高田龍平, 鈴木洋史	権利者 国立大学法人東京大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/031672	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 体臭原因物質分泌抑制剤	発明者 豊田優, 高田龍平, 鈴木洋史, 齋藤弘貴, 平田拓, 紺谷愛美	権利者 国立大学法人東京大学, ポッカ ザッポロフード
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-093156	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

Researchmap (豊田優) <a href="https://researchmap.jp/read_toyoda/">https://researchmap.jp/read_toyoda/</a> 東京大学医学部附属病院薬剤部ホームページ (豊田優) <a href="https://plaza.umin.ac.jp/~todayak/y_toyoda.php">https://plaza.umin.ac.jp/~todayak/y_toyoda.php</a>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	高田 龍平  (Takada Tappei)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関