

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03181

研究課題名(和文)揮発性有機化合物による化学物質過敏症における感受性要因の決定とその治療展開

研究課題名(英文) Determination of susceptibility factors in multiple chemical sensitivity due to exposure to volatile organic compounds and development of their treatment

研究代表者

太田 茂(Ohta, Shigeru)

和歌山県立医科大学・薬学部・教授

研究者番号：60160503

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、マウス嗅上皮や鼻粘液(鼻腔洗浄液)において薬物(異物)代謝酵素が発現し、匂い物質として多いアルデヒドを有する揮発性有機化合物の代謝反応に関与することを明らかにした。さらにはヒトにおいてもその活性は確認され、個体差が観察された。今後、匂いの感受性との関連性を評価する必要があるものの、鼻組織における代謝が揮発性有機化合物の匂いに基づく化学物質過敏症の感受性の要因となっている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、鼻組織における揮発性有機化合物の異物代謝能が、その匂いに基づく化学物質過敏症の感受性を決めている可能性が示唆された。化学物質過敏症においては、検査所見から原因物質を早期に特定し、室内環境から排除することが重要な位置づけとなるが、根本的な薬物治療が確立していない中で、薬物代謝活性を指標とした診断や、薬物代謝酵素の制御による新規治療法の確立に貢献できることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we revealed that drug (xenobiotic)-metabolizing enzymes are expressed in mouse olfactory epithelium and nasal mucus (nasal lavage fluid), and are involved in metabolic reactions of volatile organic compounds with aldehydes, which are common odorants. Furthermore, the activity was also confirmed in humans, and individual differences were observed. The results suggest that metabolism in nasal tissue may be a factor in the susceptibility to odor-based multiple chemical sensitivity to volatile organic compounds, although the relevance to odor sensitivity needs to be evaluated in the future.

研究分野：衛生薬学

キーワード：化学物質過敏症 揮発性有機化合物 匂い物質 嗅上皮 薬物代謝酵素

1. 研究開始当初の背景

化学物質によるヒトへの健康被害の中で問題となっているのが、「化学物質過敏症」であり、微量の化学物質曝露により目、鼻の粘膜刺激症状、頭痛、うつ、不眠などの脳神経系への健康影響を呈する。その発症には顕著な個人差があるが、患者数は国内で約450万人と多い。化学物質過敏症患者の約60%がシックハウス症候群を契機に発症することが知られ、建材や家具に使用されるホルムアルデヒドなどの匂い物質となる「揮発性有機化合物」の曝露によって生じる。これら化学物質の室内濃度が高いと発症頻度が高くなることから、ホルムアルデヒドなど室内揮発性有機化合物13物質については、室内濃度の指針値が設定され、ほとんどが基準値を下回るようになった。しかしながら、近年、揮発性有機化合物の中でも、指針の対象となっていない「香料」の室内濃度が高いことがわかり、「香害」と呼ばれる頭痛などの健康被害のケースが増えてきている。このような化学物質過敏症の「感受性」を決める決定因子として、「薬物(異物)代謝酵素」シトクロムP450 (CYP)2D6やグルタチオン-S-転移酵素(GST)の低活性を示す遺伝多型を示唆した報告があるが、化学物質の血中曝露濃度に反映しない毒性であることから、全身の代謝酵素活性だけでは完全に説明できない。さらにはアレルギー反応の個人差なども原因のひとつとして考えられているものの、十分に明確にはなっていない。このため、根本的な治療はなく、ビタミン剤、抗うつ剤、抗炎症薬、睡眠導入剤の処方による対処療法にとどまる。

嗅上皮や一部鼻粘液には、「薬物代謝酵素(CYP、カルボキシル加水分解酵素(CES)、グルクロン酸転移酵素(UGT)、GSTなど)」が発現していることが知られている(Heydel et al., Drug Metab Rev, 2019)。その生理学的意義は十分に分かっていないが、嗅覚受容体に作用する前に、鼻腔に入ってきた化学物質を代謝排泄する異物排除として機能していることが考えられた。一方で、匂い物質バニリンにより活性化されることが知られる嗅覚受容体は、その酸化代謝物バニリン酸では活性化しないという知見から(Oka et al., Neuron, 2006; Li & Mastunami, Sci Signal, 2011)、鼻に発現する薬物代謝酵素が、嗅覚受容体の活性化を制御していることが示唆された。一般に薬物代謝酵素の発現や活性には個人差があることが知られていることを鑑みると、嗅上皮や鼻粘液における薬物代謝酵素にも個人差があり、それが嗅覚受容体の活性化パターンに影響を与える可能性がある。化学物質過敏症の感受性は、鼻に発現する薬物代謝酵素の活性低下が決定し、曝露された揮発性有機化合物が代謝されず鼻腔内で高濃度となることで、嗅覚受容体が過剰に活性化され、嗅神経の異常興奮に伴う脳での神経障害につながっているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

化学物質過敏症の原因物質となりうる揮発性有機化合物の感受性の決定要因を解明するため、匂い物質の中で多く分類されるアルデヒド化合物を用い、マウス嗅上皮や鼻腔洗浄液(鼻粘液)における薬物代謝の寄与を調べる。さらには、ヒトの組織を用いて、薬物代謝酵素の発現を確認した上で、その活性の個体差について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) マウス嗅上皮および鼻粘液のプロテオミクス解析

C57BL/6J 雄マウスより嗅上皮または肝臓を採取し、また、鼻腔内を緩衝液にて洗浄することで鼻粘液を回収し、これらの検体に対する LC-MS/MS を用いたプロテオミクス解析を行った。検出されたペプチドのデータセットより iBAQ 値の算出を行い、マウス嗅上皮、鼻粘液、肝臓における検出タンパク質の定性的・定量的解析を行った。

(2) マウス嗅上皮および鼻粘液での揮発性アルデヒド代謝活性評価

同様に採取したマウス嗅上皮より 9,000g 上清画分(S9)を調製し、揮発性アルデヒド成分と反応させた後の代謝物生成を LC-MS/MS により定量評価した。カルボン酸代謝物については、3-ニトロフェニルヒドラゾン(3NPH)誘導体として分析した。

(3) ヒト鼻粘膜のプロテオミクス解析

和歌山県立医科大学付属病院・頭頸部外科の協力の元、インフォームドコンセントによる同意を得た上で、副鼻腔手術中を受ける患者の鼻粘膜および鼻汁を採取し、これらヒト検体についてのプロテオミクス解析を行い、同様に iBAQ 値に基づく各タンパク質の定性的・定量的解析を行った。

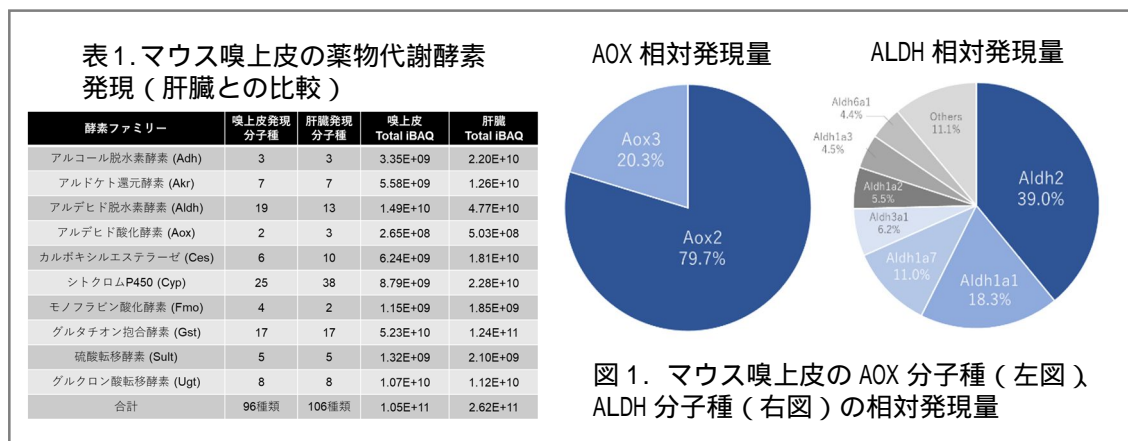
(4) ヒト鼻粘膜での揮発性アルデヒド代謝活性評価

同様に得られたヒト鼻粘膜より S9 を調製し揮発性アルデヒド成分と反応させた後の代謝物生成を LC-MS/MS により評価した。各検体の代謝活性を比較することで鼻粘膜におけるアルデヒド代謝活性における個人差の有無を評価した。

4. 研究成果

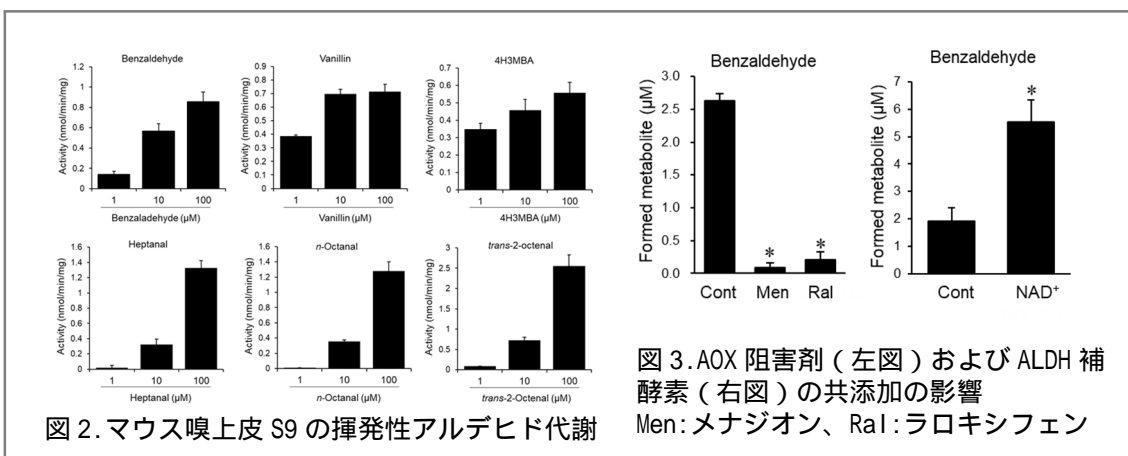
(1) マウス嗅上皮の薬物代謝酵素の発現プロファイル

C57BL/6J マウスより採取した嗅上皮のプロテオミクス解析を行った結果、CYP、UGT、CES、アルデヒド酸化酵素 (AOX)、アルデヒド脱水素酵素 (ALDH) などの幅広い薬物代謝酵素が検出された。また、これらの発現量を調べるために、薬物代謝酵素の発現が最も高いことが知られる肝臓の結果と定量的な比較をしたところ、マウス嗅上皮の各酵素ファミリーの発現量は肝臓と遜色ない程度に高いことが明らかになった (表 1)。さらに、揮発性アルデヒドの代謝に関与することが想定される AOX や ALDH について、検出された分子種の相対発現量を比較した結果、マウス嗅上皮の主要な AOX 分子種は AOX2、主要な ALDH 分子種は ALDH2、ALDH1a1、ALDH1a7 であることが分かった (図 1)。



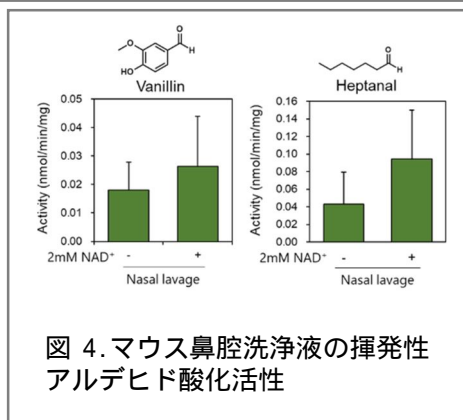
(2) マウス嗅上皮での揮発性アルデヒド代謝活性

揮発性の匂い成分は多様な化学構造を有するが、その中でもアルデヒドは特に多くの割合を占めることが報告されている (Tsuzuki *et al.*, *J Agric Food Chem*, 2019)。そこで、様々な揮発性アルデヒド化合物のマウス嗅上皮 S9 における代謝反応を評価した。その結果、マウス嗅上皮において、幅広い脂肪族アルデヒドおよび芳香族アルデヒドが酸化代謝された (図 2)。マウス嗅上皮での揮発性アルデヒドの酸化反応における AOX や ALDH の寄与を評価したところ、メナジオン、ラロキシフェンなどの AOX 阻害剤の添加によりこのアルデヒド酸化活性が抑制された一方で、ALDH 補酵素である NAD⁺の添加によりアルデヒド酸化活性は増加したことから、マウス嗅上皮での揮発性アルデヒドの酸化反応には AOX と ALDH が共に関与することが明らかとなった (図 3)。



(3) マウス鼻粘液における薬物代謝酵素の存在

アセチルオイゲノールなどの揮発性エステルがマウスの鼻腔洗浄液中で加水分解反応を受けるという以前の報告より、揮発性成分の代謝酵素が嗅上皮から鼻粘液中に分泌される可能性が示唆されていた (Nagashima & Touhara, *J Neurosci*, 2010)。しかしながら、鼻粘液における他の薬物代謝酵素の存在の有無および他の揮発性成分の代謝活性については未解明なままであった。そこで、鼻腔内洗浄により回収したマウス鼻粘液のプロテオミクス解析を行ったところ、嗅上皮に存在する多くの薬物代謝酵素が鼻粘液中にも存在しており、AOX や ALDH の分子種発現プロファイルは嗅上皮のものと同様であった。さらに、揮発性アルデヒド



のカルボン酸への代謝活性も確認された（図 4）。今後、嗅上皮から鼻粘液への酵素分泌メカニズムをさらに検討する必要があるが、マウス鼻粘液中に薬物代謝酵素が分泌され、揮発性成分を代謝することを明らかにした。

（4）ヒト鼻粘膜における揮発性アルデヒド代謝活性の個人差

副鼻腔手術を受ける患者から得られたヒト鼻粘膜のプロテオミクス解析を行った結果、マウスと同様にいくつかの薬物代謝酵素の発現が認められた（表 2）。さらに、揮発性アルデヒド成分の代謝活性を評価したところ、ヒト鼻粘膜においてもアルデヒド酸化活性が存在することが確認された（図 5）。さらに、より多くの検体を対象にした検討は必要であるものの、ヒト鼻粘膜における揮発性アルデヒドの代謝活性には個人差があることが示唆された。現在、組織採取と同時に、アンケートによって各患者の化学物質過敏症発症の有無を調査しており、今後、この化学物質過敏症発症と鼻粘膜の薬物代謝活性にどのような関連性があるかを詳細に解析する予定である。

表 2. ヒト鼻粘膜の薬物代謝酵素発現

酵素ファミリー	分子種数	分子種
アルコール脱水素酵素 (ADH)	4	ADH1B, 1C, 5, 7
アルドケト還元酵素 (AKR)	6	AKR1A1, 1B1, 1C1, 1C2, 1C3, 7A2
アルデヒド脱水素酵素 (ALDH)	17	ALDH1A1, 1A2, 1A3, 1B1, 1L1, 1L2, 2, 3A1, 3A2, 3B1, 4A1, 5A1, 6A1, 7A1, 9A1, 16A1, 18A1
アルデヒド酸化酵素 (AOX)	1	AOX1
カルボキシエステラーゼ (CES)	2	CES1, 3
シトクロムP450 (CYP)	-	-
モノフラビン酸化酵素 (FMO)	1	FMO3
グルタチオン抱合酵素 (GST)	10	GSTA1, A2, K1, M1, M2, M3, O1, P1, T1, Z1
硫酸転移酵素 (SULT)	1	1A1
グルクロン酸転移酵素 (UGT)	-	-
合計	42種類	-

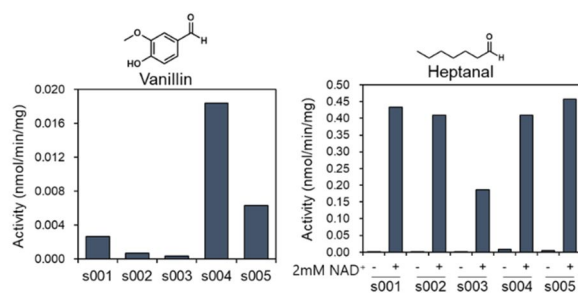


図 5. ヒト鼻粘膜 S9 における揮発性アルデヒド酸化活性 (s001 ~ s005: 患者 ID)

（5）今後の展望

遺伝子改変モデルや阻害剤の投与により、揮発性アルデヒド成分の代謝に関与する鼻の AOX や ALDH の機能を抑制した際に、揮発性アルデヒドの鼻腔内局所濃度、嗅覚受容体の活性化パターン、脳神経への影響などをマウス *in vivo* モデルにより評価する予定である。さらに、ヒト鼻粘膜における揮発性アルデヒド代謝における個人差が示唆されたため、この個人差が化学物質過敏症の発症要因となりうるのかを詳細に解析していきたいと考えている。

化学物質過敏症と鼻の薬物代謝酵素との関連性を明らかにすることができれば、「ヒト鼻粘液や鼻粘膜の代謝酵素活性」を指標とした化学物質過敏症の新しい診断指標の構築につながるだけでなく、鼻の薬物代謝酵素を活性化させるといふ新規治療薬の開発に繋がることが期待される。

< 引用文献 >

Heydel JM, Faure P, and Neiers F (2019) Nasal odorant metabolism: Enzymes, activity and function in olfaction. *Drug Metab Rev.* 51, 224-245.

Li YR, and Matsunami H (2011) Activation state of the M3 muscarinic acetylcholine receptor modulates mammalian odorant receptor signaling. *Sci Signal.* 4, ra1

Nagashima A, and Touhara K (2010) Enzymatic conversion of odorants in nasal mucus affects olfactory glomerular activation patterns and odor perception. *J Neurosci.* 30, 16391-16398.

Oka Y, Katada S, Omura M, Suwa M, Yoshihara Y, and Touhara K (2006) Odorant Receptor Map in the Mouse Olfactory Bulb: In Vivo Sensitivity and Specificity of Receptor-Defined Glomeruli. *Neuron.* 52, 857-869.

Tsuzuki S (2019) Higher Straight-Chain Aliphatic Aldehydes: Importance as Odor-Active Volatiles in Human Foods and Issues for Future Research. *J Agric Food Chem.* 67, 4720-4725.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takaoka N, Sanoh S, Ohta S, Esmaeeli M, Leimkuhler S, Kurosaki M, Terao M, Garattini E, Kotake Y.	4. 巻 715
2. 論文標題 Involvement of aldehyde oxidase in the metabolism of aromatic and aliphatic aldehyde-odorants in the mouse olfactory epithelium	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arch Biochem Biophys.	6. 最初と最後の頁 109099
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.abb.2021.109099.	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 該当する

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 高岡 尚輝, 佐能 正剛, Kurosaki Mami, Terao Mineko, Garattini Enrico, 酒谷 英樹, 村上 大地, 河野 正充, 保富 宗城, 太田 茂
2. 発表標題 マウスとヒトの嗅上皮におけるアルデヒド匂い成分の代謝と医薬品成分による阻害
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Takaoka N, Sanoh S, Kurosaki M, Terao M, Garattini E, Ohta S
2. 発表標題 Metabolism of aldehyde odorants by nasal aldehyde-metabolizing enzymes and their inhibition by drugs
3. 学会等名 2023 ICCP450/JSSX International Joint Meeting (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高岡 尚輝, 佐能正剛, 古武 弥一郎, Mami Kurosaki, Mineko Terao, Enrico Garattini, 太田 茂
2. 発表標題 マウス嗅上皮におけるアルデヒド代謝酵素の発現プロファイルと揮発性アルデヒド代謝活性
3. 学会等名 フォーラム2023衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐能 正剛
2. 発表標題 マウスにおけるアルデヒド酸化酵素分子種の生理機能解析
3. 学会等名 令和4年度内外環境応答・代謝酵素研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐能 正剛
2. 発表標題 薬物代謝における非P450酵素の関与と創薬における in vitro/in vivo 評価：アルデヒド酸化酵素の関与
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高岡 尚輝 , 佐能 正剛 , 古武 弥一郎 , Mariam Esmaeeli , Silke Leimkuhler , Mami Kurosaki , Mineko Terao , Enrico Garattini , 酒谷 英樹 , 村上 大地 , 河野 正充 , 保富 宗城 , 太田 茂
2. 発表標題 嗅上皮と鼻粘液に存在する異物代謝酵素によるアルデヒド匂い物質の代謝
3. 学会等名 第16回次世代を担う若手のための医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoki Takaoka , Seigo Sanoh , Yaichiro Kotake , Mariam Esmaeeli , Silke Leimkuhler , Mami Kurosaki , Mineko Terao , Enrico Garattini , Hideki Sakatani , Daichi Murakami , Masamitsu Kono , Muneki Hotomi , Shigeru Ohta
2. 発表標題 Metabolic activities of aldehyde volatile organic compounds in olfactory epithelium and nasal mucus
3. 学会等名 2022 Japan/Korea Joint Symposium on Pharmaceutical Health Science and Environmental Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高岡 尚輝 , 佐能 正剛 , 古武 弥一郎 , Mariam Esmaeeli , Silke Leimkuhler , Mami Kurosaki , Mineko Terao , Enrico Garattini , 酒谷英樹 , 村上 大地 , 河野 正充 , 保富 宗城 , 太田 茂
2. 発表標題 嗅上皮と鼻粘液におけるアルデヒド揮発性有機化合物の代謝活性
3. 学会等名 フォーラム2022衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高岡 尚輝 , 佐能 正剛 , 太田 茂 , Esmaeeli Mariam , Leimkuhler Silke , Kurosaki Mami , Terao Mineko , Garattini Enrico , 古武 弥一郎
2. 発表標題 マウス嗅上皮に存在する薬物代謝酵素によるアルデヒド基を有する匂い成分の酸化代謝
3. 学会等名 日本薬学会第142回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐能 正剛
2. 発表標題 シトクローム P450 とアルデヒド酸化酵素の肝外組織における生理機能
3. 学会等名 日本薬物動態学会第36回年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高岡 尚輝 , 佐能 正剛 , 太田 茂 , Esmaeeli Mariam , Leimkuhler Silke , Kurosaki Mami , Terao Mineko , Enrico Garattini , 古武 弥一郎
2. 発表標題 嗅上皮アルデヒド酸化酵素による揮発性有機化合物の代謝
3. 学会等名 フォーラム2021衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

和歌山県立医科大学薬学部・衛生薬学研究室ホームページ
<https://www.wakayama-med.ac.jp/pharm/ohtalab/>

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
研究分担者	佐能 正剛 (Sanoh Seigo) (00552267)	和歌山県立医科大学・薬学部・准教授 (24701)	
研究分担者	古武 弥一郎 (Kotake Yaichiro) (20335649)	広島大学・医系科学研究科(薬)・教授 (15401)	

	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	高岡 尚輝 (Takaoka Naoki) (40909587)	和歌山県立医科大学・薬学部・助教 (24701)	

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
---------	---------

イタリア	Mario Negri			
ドイツ	University of Potsdam			