



(様式 5)

指導教員 承認印	
-------------	---

2019年 12月 9日
Year Month Day

学位 (博士) 論文要旨

(Doctoral thesis abstract)

論文提出者 (Ph. D. candidate)	工学府博士後期課程 生命工学 専攻 (major) 平成 28 年度入学(Admission year) 学籍番号 16831301 氏名 浅川 賢史 (student ID No.) (Name)  (Seal)
主指導教員氏名 (Name of supervisor)	養王田 正文
論文題目 (Title)	嗅覚受容体の匂い分子応答に対するシトクロム P450 の効果
論文要旨 (2000 字程度) (Abstract(400 words)) ※欧文・和文どちらでもよい。但し、和文の場合は英訳を付すこと。 (in English or in Japanese) <p>環境には様々な揮発性分子が存在し、生物はこれらを匂いとして感知している。匂い分子は鼻から吸入され、鼻腔を通して嗅覚神経細胞に発現している嗅覚受容体(Odorant receptor: OR)へ輸送されて結合する。するとシグナル伝達が脳へと伝わり、匂いとして認識される。1つの嗅覚神経細胞には1種類のORのみが発現しており、各細胞の異なる応答を集約することで、生物の嗅覚は高感度・高識別性を有している。しかしながらORと匂い分子の関係には未解明な点が多く、応答する匂い分子が同定されたORの数は少ない。その一因として、ある匂い分子応答する嗅覚神経細胞に発現しているORの遺伝子を獲得し、そのOR遺伝子を実験細胞に導入し発現させても、嗅覚神経細胞で見られた匂い分子応答と同等には応答が見られない、すなわち応答しないあるいは応答が低いことが挙げられる。近年、マウスの嗅粘液中の酵素群が嗅覚神経細胞の感受性や特異性に影響を与えることが指摘された。また嗅粘膜中のシトクロム P450 (CYP) の関与が示唆された。これらのことから、CYPが匂い分子を代謝しORの匂い分子応答に影響している可能性が考えられる。本学位論文では、ORの匂い分子応答にCYPが影響しているか解析することを目的とした。</p> <p>第1章「序論」では、嗅覚受容体や匂い分子応答に影響する因子に関する情報を概説した。</p> <p>第2章「培養細胞における嗅覚受容体の匂い分子応答に対するシトクロム P450 の効果」</p>	

では、MOR161-2 のアセトフェノン応答が CYP1a2 共発現により増大することから、CYP1a2 によるアセトフェノンの代謝産物の特定および、MOR161-2 の匂い分子応答性の変化を解析した。また他の OR においてもアセトフェノン応答性を測定し、CYP とアセトフェノンの関係性が OR のアセトフェノン応答性に関与するのかを解析した。CYP1a2 がアセトフェノンをサリチル酸メチルに代謝したことが示唆された。Rho-MOR161-2 はサリチル酸メチルにも応答すること、その応答性に CYP1a2 共発現による影響はないことから、CYP1a2 はアセトフェノンをサリチル酸メチルに代謝することで、Rho-MOR161-2 のアセトフェノン応答性を増大させる効果を持つことが示唆された。

第3章「マウスの嗅上皮における嗅覚受容体の匂い分子応答の解析」では、*in vivo* における嗅覚受容体の匂い分子応答について報告した。実際の動物の鼻においても、嗅粘膜に発現している CYP が匂い分子を代謝してから、その代謝産物に OR が応答していることが考えられる。そこでマウスの嗅上皮を対象に、抗体染色を用いた *in situ hybridization* によって、CYP が OR の匂い分子応答に関与しているかどうかを解析した。CYP 阻害剤をマウスの鼻腔に注入することで、OR の匂い分子応答が低減するかどうかを調べた。溶液を鼻腔に注入するという操作が嗅粘液の洗浄をもたらし、その結果としてアセトフェノンの応答が低減した。一方でサリチル酸メチルへの応答は変化しなかった。このことから嗅粘液が OR の匂い分子応答に影響していることが示唆された。

第4章「総合考察」では、得られた結果について考察すると共に今後の展望について述べた。

(英訳) ※和文要旨の場合(400 words)

Olfactory receptors are GPCRs expressed on olfactory neurons and function as sensors to detect odor molecules. Hundreds or more types of OR genes are present in the mammalian genome, and various OR molecules are detected with high sensitivity by expressing diversity-rich OR. Ligand identification of individual ORs has been progressed by ligand screening technology using cells so far, but the biochemical analysis of the OR itself including analysis of OR-ligand interactions has not progressed at all. Olfaction is mediated by the binding of odorant molecules to olfactory receptors (ORs). There are numerous proteins in the nasal mucus, and they contribute to olfaction through various mechanisms. Cytochrome P450 (CYP) family members are known to be present in the olfactory epithelium and are thought to affect olfaction by enzymatic conversion of odorant molecules. In this study, we examined the effects of CYPs on the ligand responses of ORs in heterologous cells. Among the CYPs tested, co-expression of CYP1a2 significantly affected the responses of various ORs, including MOR161-2, to acetophenone. Conversion of acetophenone to methyl salicylate was observed in the medium of CYP1a2-expressing cells. MOR161-2-expressing cells exhibited significantly greater responses to methyl salicylate than to acetophenone. Finally, we analyzed the responses of olfactory neurons expressing MOR161-2 in vivo using the phosphorylated ribosomal protein S6 as a marker. MOR161-2 responded to both acetophenone and methyl salicylate in vivo. When the olfactory mucus was washed out by the injection of PBS to mouse nasal cavity, the response of MOR161-2 to acetophenone was reduced, while that to methyl salicylate did not change. Our data suggest that CYP1a2 affects OR activation by converting acetophenone to methyl salicylate.