

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2004.12) 5巻1号:15-25.

においと医療

柏柳 誠

依頼論文 (総説)

においと医療

柏 柳 誠*

【要 旨】

においをキーワードに医療を考えてみると、1) 嗅覚障害の治療、2) 神経性疾患の嗅覚傷害を利用した診断、3) 患者が発するにおいを利用した疾病の診断、4) 再生能力をもつ嗅覚系細胞の治療への応用、および 5) おいを薬に応用することがあげられる。本小論では、においの受容機構の解説を中心として、においと医療について考察する。

キーワード おおい、嗅細胞、細胞内情報伝達、フェロモン

はじめに

アリストテレスの時代から、患者が発するにおいで病気を診断する試みがなされている。最近、訓練したイヌに尿を嗅がせて膀胱ガンを発見する試みが報告されている¹⁾。また、Phillips は呼気中のにおい成分をガスクロマトグラフィーで分析することにより、肺ガンを見つけ出そうとしている²⁾。このような嗅覚そのものおよび嗅覚系を模したセンサーを診断に用いる試みも一つのにおいと医療の接点と考えられる。

生物が産生した物質のみならず、揮発する性質を有する人工的に合成された化合物にも固有のにおいが存在する。このために、化学の発達に伴ってにおい物質の種類は増え続けているといえる。一説では、10万種類あるいは40万種類のおおいが存在するといわれるように、においの種類は無数にあるといってもよい。嗅細胞は、これらの物質を鋭敏に検知し、識別している。嗅覚情報は哺乳動物において古い脳に投射するように、生物の生存に必須の感覚となっている。このため、多くの動物では、嗅覚に関係した情報処理を行う脳の領域は、相対的に非常に高い比率を占めている。ヒトにおいては、文明の進歩とともに生活環境の改善が進んだために嗅覚系の損傷が直ちに生命の危機に結びつ

かないものの、香りが食物をおいしく感じるための重要な要素となっていることや香水を体に塗布する様子が古代エジプトの壁画に描かれていることわかるように、高いレベルで生活の質を維持するためには嗅覚系が必須である。このために、事故あるいは疾病により嗅覚を喪失した場合、その改善を図ることは重要である。

しかしながら末梢における嗅覚障害を改善することだけを考えてみても、ノーベル賞(医学生理学賞)を受賞した Neher と Sakmann が開発した生理学的実験手法(パッチクランプ法)の導入により飛躍的に嗅覚受容機構の解明が進んだとはいえ、においの受容機構は完全に解明されたとは言えないために現在では難しい。本小論では、嗅覚系の特徴とともに現在まで解明された嗅覚受容機構の分子機構を中心に医療との関わりを交えて述べる。また、におい物質の中には、内分泌系や自律神経系の変化を引き起こす物質が存在する。最近発表された自律神経系の変化を引き起こすにおい物質の作用を紹介するとともに、ヒトを含む哺乳動物で内分泌系の変化を引き起こすフェロモン情報の受容の分子機構について解説する。

*旭川医科大学 生理学第二講座

1. 嗅細胞

鼻腔の奥の方は、嗅上皮で覆われている (図1)。嗅上皮は、嗅細胞、支持細胞と基底細胞から構成されている (図1c)。これらの細胞のうち、嗅細胞だけがにおい分子の受容機能をもつ。嗅細胞は、1) 遺伝子情報が含まれている核が存在し、遺伝子にコードされた蛋白質が合成されている細胞体、2) 樹状突起を介して細胞体とつながっている嗅小胞、3) 嗅小胞から伸びている10本近くの嗅繊毛、4) 細胞体から中枢に伸びている神経軸索から構成されている。走査型電子顕微鏡で観察すると、嗅上皮の表面には嗅小胞と嗅繊毛が見える。嗅上皮の表面は、嗅粘液で覆われている。粘液中には、非特異的ににおい物質と結合するにおい物質結合蛋白質が存在している。この蛋白質は、粘液

中におい物質濃度を高めることにより嗅覚系の感度を増加させる役割を持つ、あるいは、嗅繊毛および嗅小胞近傍におい物質を素早く除去して新たなおい物質に対する準備を助ける役割が考えられている。嗅細胞は、神経細胞がおい物質を受容するために分化したものである。

脳の中では、多数の神経細胞で構成される回路網を電気信号が行き交うことにより、外部情報を認知している。すなわち、我々が脳でおい情報を認知するためには、におい情報が脳で情報処理されることが可能な電気的情報に変換されることが必須である。このために、嗅細胞の一番大切な生理的機能は、におい物質が持つ化学的な分子情報を電気的な受容器電位と呼ばれる電位変化に変換することにあるといえる (図1d)。さらに、嗅細胞は、受容器電位を中枢に情報が劣化す

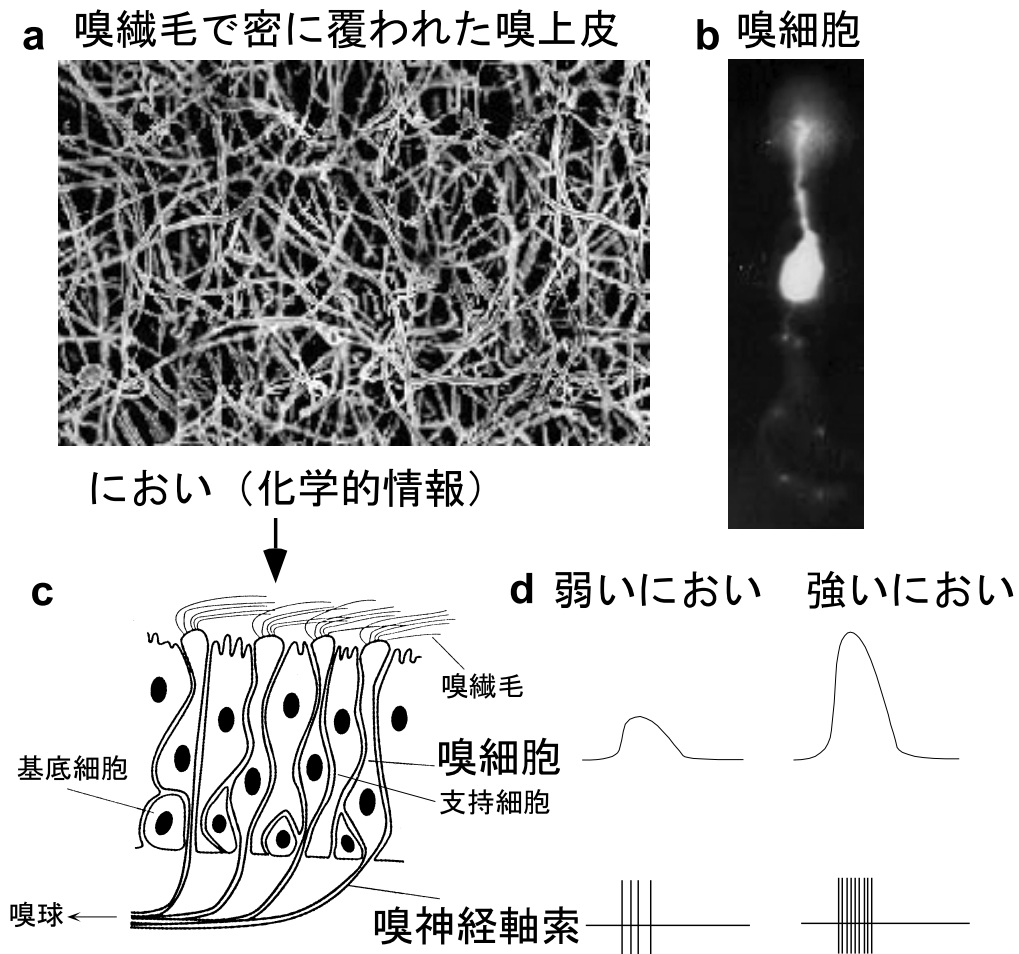


図1 走査型電子顕微鏡で観察した嗅上皮(a)、蛍光色素で可視化した嗅細胞(b)、表面嗅上皮の模式図(c)、弱いにおいと強いにおいを与えたときに嗅細胞で生ずる受容器電位と嗅神経軸索を伝播する神経インパルス。

ることなく伝えることが可能な神経インパルスにさらに変換し、神経軸索を介してにおい情報を中枢に送っている。においの強度が増加すると、それに対応して受容器電位の振幅も増強する。この結果、単位時間あたりに発生する神経インパルスの数も増加する(図 1d)。すなわち、においが強くなると、嗅神経を伝わる神経インパルスの頻度が増加する。このような基本的なしくみは、後に述べるフェロモンを受容する鋤鼻器感覚細胞でも同様である。

また、アルツハイマー病などの神経疾患では、嗅細胞に傷害が見られる可能性が示されている。1989年に、Talamo らは、神経繊維に対する抗体で染色すると、アルツハイマー病患者の嗅上皮に存在する嗅細胞では特徴的な病理所見が観察されることを報告し、アルツハイマー病の確定的な診断に活用できる可能性が期待された³⁾。しかし、同様の所見が、パーキンソン病の患者でも見られるだけでなく、健常高齢者でも観察された⁴⁾。一方、アルツハイマー病の患者から採取した嗅細胞のにおいに対する応答は、コントロールと比べて選択性が異なる可能性を示す予備的な実験もある⁵⁾。このため、嗅細胞の生理的な機能に損傷を及ぼす変化が、アルツハイマー病により引き起こされることが考えられる。

2. 嗅覚の中樞経路とアルツハイマー病

嗅細胞は、嗅球の糸球体で僧帽細胞とシナプスを形成している。嗅球からは、嗅索を介して嗅球前核、扁桃核、嗅結節、梨状葉皮質および嗅内野皮質の内側、外側に投射している。嗅内野皮質からはさらに記憶を司る海馬に投射している。また、扁桃核および梨状葉皮質からはにおいの認知に関係していると考えられている前頭眼窩皮質に投射している。後に説明する嗅覚受容体は、一つの嗅細胞に一種類の受容体しか発現していない。また、同じ受容体を発現している嗅細胞は、限られた数の糸球体に入力していることが明らかになっている。さらに、同じ嗅覚受容体の入力を受けている僧帽細胞が、嗅皮質の特定の複数の領域に出力している可能性が指摘された。このように、におい情報は嗅覚受容体の投射様式からは、嗅球や嗅皮質で統合されている。

PET を用いた研究によりにおい刺激を行うと梨状葉皮質では両側性に血流の増加が見られたが、前頭眼

窩皮質では右側だけに血流の増加が見られることが報告された⁶⁾。一方、不思議なことにアルツハイマー病によるにおい認知の低下に伴って左側の海馬の容積が減少する可能性がMRIを用いた研究で示されている⁷⁾。日本の嗅覚研究の草分けである高木らは、全く異なるにおい物質に対する応答をサル嗅球僧帽細胞、前梨状皮質および扁桃核、さらに高次の眼窩前頭皮質の中央後部と外側後部から測定した。その結果、眼窩前頭皮質外側後部の嗅覚領に向かう経路では、一つの神経細胞が応答するにおいの数が減少する、すなわち選択性が向上するのに対し、眼窩前頭皮質中央後部に向かう経路では、前梨状皮質や扁桃核よりもむしろ選択性が低下することが示された⁸⁾。アルツハイマー病患者では、においを検知する閾値は低下しないが、においの種類を同定する能力が低下することが示されている⁹⁾。におい認知能を検査することで初期のアルツハイマー病の診断に用いる可能性とともに、ヒトにおけるにおい認知のメカニズムを明らかにする上で、興味深い知見と思われる。

3. 嗅覚系の再生能力

嗅覚系の大きな役割の一つは、外部環境に存在する危険を検知することにある。体にとって有害な物質の存在を真っ先に感じるのは嗅覚である。このため、におい物質に直接接している嗅細胞は、有害な化学物質により損傷を受けやすい。一般に、神経細胞は成体では新生することがない。しかしながら、嗅上皮の下層には嗅細胞に分化する能力を有している基底細胞が存在していて(図 1c)、新しい嗅細胞の供給に備えている。ラットの場合、一定の割合の嗅細胞がおおよそ30日で脱落して、新しい細胞に置き換わる。すなわち、全嗅細胞が同時に重篤な傷害を受けて嗅覚系全体の機能が失われることがないように、完全には傷害を受けていない時点で、嗅細胞をその損傷の有無、程度に関わらずに置換することにより嗅覚機能を健全に保っている。嗅覚系の驚くべき能力の一つは、このようにセンサー部位にあたる嗅細胞が新しい細胞に置き換わって脳との接続が一旦途絶えても、においの認識自体は保持されていることにある。このような嗅覚系の再生能力を利用して、傷害を受けた神経の再構築を計ろうとする試みがなされている¹⁰⁾。

また、齧歯類の脳室下層では神経前駆細胞が成体に

においても新生している。ここで新たに作られた神経前駆細胞は、嗅球まで移動し、介在神経として機能する。神経接着分子を欠損したマウスでは脳室下層からの神経前駆細胞の移動が阻害される。このマウスでは匂い識別が阻害されたことから、脳室下層由来の神経細胞の供給が匂い識別能力の維持に関係している可能性が考えられている¹¹⁾。我々は、BrdUを腹腔内投与して嗅球における脳室下層で新生した細胞が加齢によりどのように変化するかを調べたところ、若年のラットと比べ、老年では著しく低下することを見いだした(図2)¹²⁾。ヒトにおいても、種々のマーカーを用いた実験から齧歯類と同様の脳室下層が存在する可能性が示されている¹³⁾。これらの結果から、加齢あるいはアルツハイマー病などの疾患と脳室下層における神経前駆細胞の産生との関係を調べることは興味深いと思われる。

4. におい情報の電気的な情報への変換

1) におい物質によるセカンドメッセンジャーの産生
 神経伝達物質やホルモンを受容する細胞の多くでは、セカンドメッセンジャーと呼ばれる分子が細胞内での情報伝達を担っている。におい物質がGTP依存的にサイクリックAMP(cAMP)の産生を引き起こすことから、ホルモンや神経伝達物質がcAMP合成酵素を活性化する際にGTP結合蛋白質を介する機構と同様の仕組みでにおい物質もcAMPの産生を引き起こしている可能性が示された。1986年に鈴木は、遊離したウシガエル嗅細胞内へcAMPを投与したところ、内向き電流応答が生ずることを報告した。cAMPを介する経路の役割を検討するために、cAMP作動性チャネル、嗅細胞に特異的に発現しているG_sタイプのGTP結合タンパク質(Golf)や嗅細胞に多く存在するcAMP合成酵素のタイプIIIをノックアウトした生後一日の新生児マウスがにおい物質に反応する能力を有しているかを検討したところ、におい反応が阻害さ

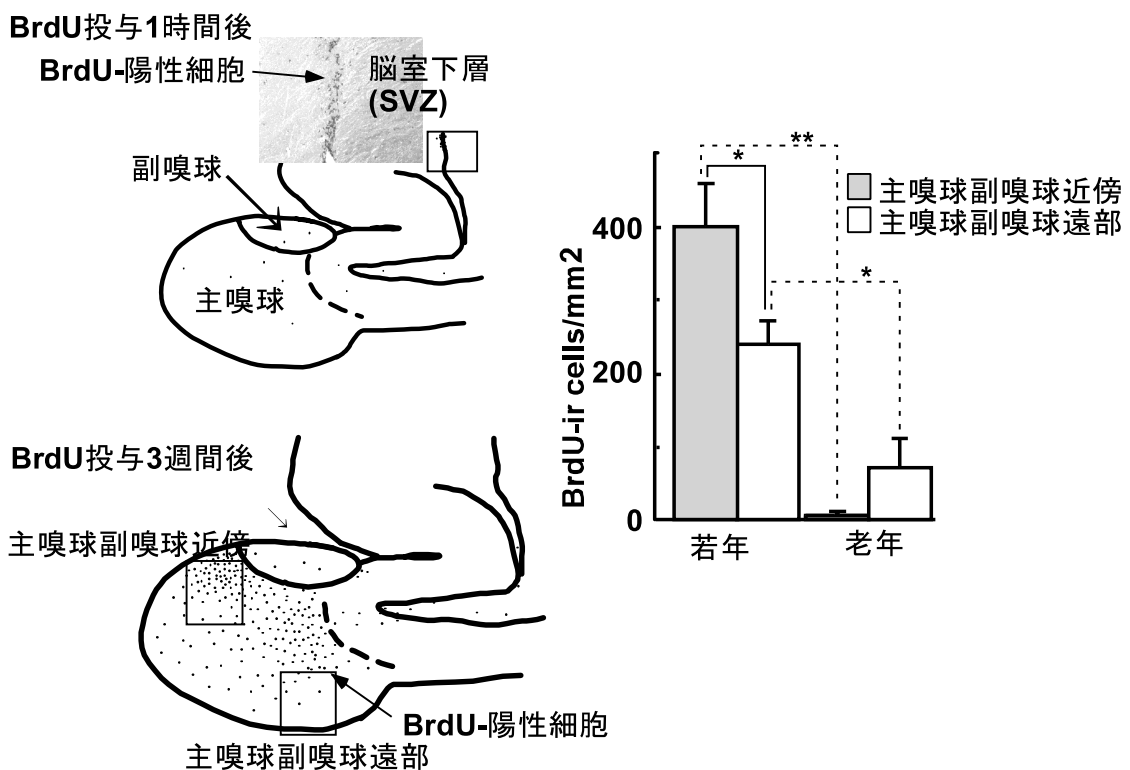


図2 加齢により減少する新生神経細胞
 新生細胞のマーカーであるBrdUを投与すると、脳室下層で陽性細胞が観察されるが、3週間後には主嗅球に移動する(左)。3週間後のBrdU陽性細胞は、若年と比べて老年ラットでは著しく減少する(右)。

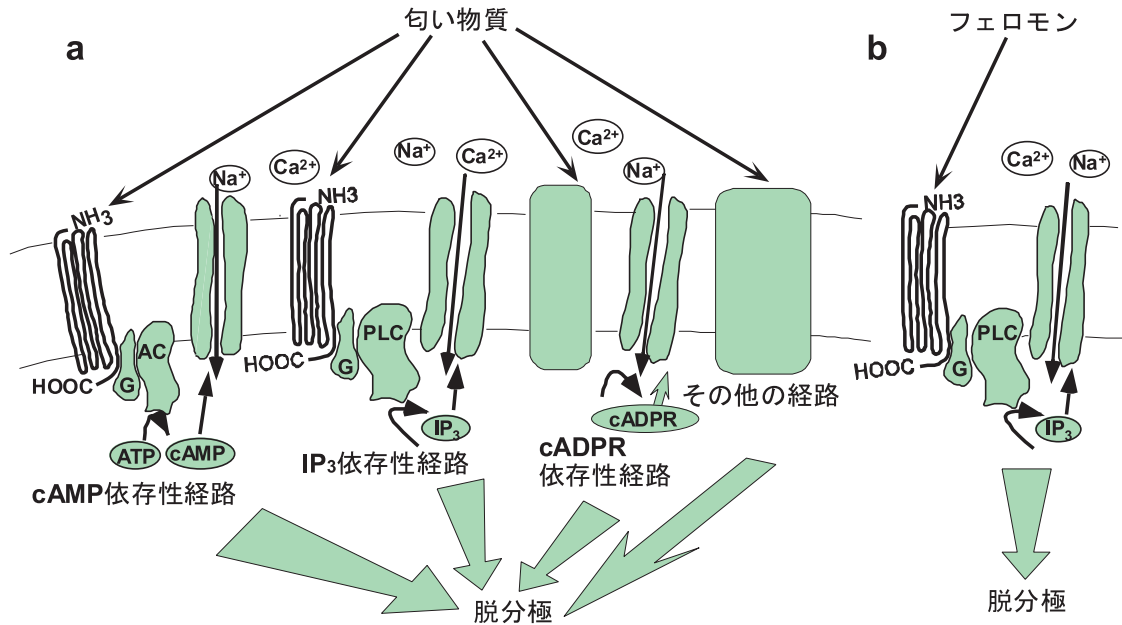


図3 におい応答(a)およびフェロモン応答(b)の発生経路。
におい応答は複数の経路で発生するがフェロモン応答はイノシトールトリスリン酸 (IP₃) を介して発生する。

れた。これら結果は、におい物質が受容体と結合すると GTP 結合蛋白質を介して、アデニル酸シクラーゼ (cAMP 合成酵素) が活性化される。その結果細胞内で生じた cAMP は、cAMP 作動性チャネルを開口し、嗅細胞の脱分極を引き起こすことにより、におい情報を電気的な情報に変換する経路が働いていることを示した (図3)。

2) イノシトールトリスリン酸 (IP₃) を介するにおい情報変換経路

cAMP がにおい受容に重要な働きをしていることが示されてきたが、におい受容は単純に cAMP だけでは説明できない。1986年に Sklar らは、ウシガエルの嗅繊毛標品を用いた実験により、におい物質の中には大きなにおい応答を引き起こすが cAMP を全く増加させないにおい物質が存在することを示した。すなわち、全てのにおい応答が cAMP を介して発生するのではないことが生化学的に示された。現在までに調べられているおよそ70種類のにおい物質のなかで、60% 近いにおい物質が cAMP を産生させるが、残りのにおい物質は cAMP 濃度を増加させなかった。これらの結果は、先に述べたノックアウトマウスで得られた結果とは矛盾する。しかしながら、ノックアウトマウスでは実験者が予期しないアーティファクトが生ずる

ことは広く認識されている。Breer のグループは、cAMP の産生を引き起こさないにおい物質の中には cAMP と並んでセカンドメッセンジャーとして働くことが広く知られているイノシトールトリスリン酸 (IP₃) を産生させるにおい物質が存在することを見出した。この際、におい物質は cAMP か IP₃ のいずれか一つのセカンドメッセンジャーしか増加させなかったことから、におい物質の中には cAMP 濃度を増加させるグループと IP₃ 濃度を増加させるグループが存在することが示唆された。このようなにおい物質のグループ分けは、揮発性のにおい物質を受容する動物の間では種間の違いを越えて成立する。たとえば、ウシガエルの嗅細胞で cAMP 産生を引き起こさないにおい物質は、ラット、ヒツジおよびカメなどの嗅細胞でも cAMP 産生を引き起こさない。

様々な動物の嗅細胞に IP₃ を注入すると応答が発現することから、cAMP を介さないにおい物質に対する応答は、IP₃ を介して発現する可能性が示唆された。カビから単離されたアデノホスチンは、IP₃ のアゴニストとして細胞内の Ca ストアからの Ca²⁺ の遊離を引き起こす。北海道大学の松田教授のグループは、各種のアデノホスチンの誘導体を合成した。これらの各種誘導体の嗅細胞への作用は、小脳の Ca ストアへの結合様式と異なっていた¹⁴⁾。この結果と嗅細胞に存在す

る IP_3 作動性チャネルは細胞膜に存在する特徴を有していることを考えると、嗅細胞に存在する IP_3 作動性チャネルは既存のチャネルと異なる可能性が考えられる。

3) cAMP および IP_3 を介さないにおい応答

Lancet のグループは、定量的な RT-PCR 法により、マウス嗅細胞の cAMP 作動性チャネルは、胎生19日目から発現しはじめることを示した。一方、Gesteland らは、発生に伴う嗅細胞のにおい応答の変化を測定したところ、胎生15日目からにおい応答が生ずることを報告している。このように、未成熟な嗅細胞は、cAMP 作動性チャネルが発現していないにもかかわらず、cAMP のみを増加させる性質を有するにおい物質に反応する能力をもっている。成熟した嗅細胞でも、cAMP を介さない経路でにおい応答が発現する。筆者らは cAMP 作動性チャネルが働かない状態（順応した状態）を作り出して、におい応答を測定した。カメヤカエルの嗅細胞に高濃度の cAMP を注入すると、いったん大きな反応が発生するが、cAMP を与え続けているにもかかわらず反応が順応する¹⁵⁾。このような条件下で cAMP のみを増加させる性質を有するにおい物質を投与すると、新たに大きなにおい反応が生じた。このような結果から、cAMP のみならず IP_3 を介さずに発現するにおい反応経路が存在する。筆者らは、新たなセカンドメッセンジャーとして注目されているサイクリック ADP リボース (cADPR) が嗅細胞に興奮性の反応を引き起こすことと cADPR の阻害剤がにおい反応を抑制することから、cADPR がセカンドメッセンジャーとして細胞内情報変換に関与している可能性を見いだした¹⁶⁾。

図3に、嗅細胞での情報変換過程をまとめた。におい物質が受容体と結合すると GTP 結合蛋白質を介して、アデニル酸シクラーゼ (cAMP 合成酵素) あるいはホスホリポラーゼC (IP_3 合成酵素) が活性化される。細胞内で生じたサイクリック AMP (cAMP) あるいはイノシトールトリリン酸 (IP_3) は、それぞれに対応するイオンチャネルを開口し、嗅細胞の脱分極を引き起こす。それに加えて、また、これらのセカンドメッセンジャーを介さない経路も、におい反応の発現に重要な役割を演じていると思われる。

5. におい受容体

1) 嗅覚受容体のクローニングと機能

1991年、Buck と Axel は、におい反応の発生機構を参考にしてラット嗅組織より7回膜貫通型の嗅覚受容体をクローニングした (図4a)⁶⁾。嗅覚受容体がおい受容体として機能する可能性は、株化細胞に嗅覚受容体を強制発現させる手法で調べられている。例えば、マウス由来の嗅覚受容体 m-OR-EG はオイゲノールにより cAMP の産生を促す。驚いたことに、ラットやカエルなどの嗅繊毛では、cAMP を全く増加させずに IP_3 を選択的に増加させるエチルバニリンも m-OR-EG を介して cAMP を増加させた。マウスの嗅細胞に存在する cAMP 作動性チャネルをロックアウトすると、におい反応が生じなくなることが報告されている。このため、マウスに限っては全てのおい物質が cAMP をセカンドメッセンジャーとして用いているために、マウス由来の m-OR-EG で上記のような現象が見られたのかも知れない。また、ヒト17染色体に存在する嗅覚受容体の遺伝子は、Miller-Dieker syndrome の患者が欠損している遺伝子の近くに存在していることが報告されていることから、嗅覚受容体とこの疾病との関係が推測されている。

2) 単一の嗅細胞には複数のにおい受容体が存在する

シングルセル PCR の結果から、一つの嗅細胞には一種類の嗅覚受容体が発現していると推測されていた。しかしながら、生理学的な手法で嗅細胞のにおい反応特異性を調べてみると、個々の嗅細胞はいろいろな構造をもつにおい物質に反応する。たとえば、嗅細胞から伸びている嗅繊毛の一つをパッチ電極に吸引すると、単一の嗅細胞からのにおい反応を測定することができる。図5aで示したウシガエルのある嗅細胞は、分子構造が全く異なり、においの質も全く異なるヘジオンやオイゲノールなどの刺激に用いた7種類のおい物質の全てに反応した¹⁷⁾。

先に述べたようににおい物質は、基本的に cAMP か IP_3 のどちらかの一つのセカンドメッセンジャーしか増加させない。しかしながら、cAMP を増加させるにおい物質 (ヘジオン、オイゲノール、ゲラニオール、シトラルバ) と、 IP_3 を増加させる性質を有するにおい物質 (ライラール、リリアルール、エチルバニリン)

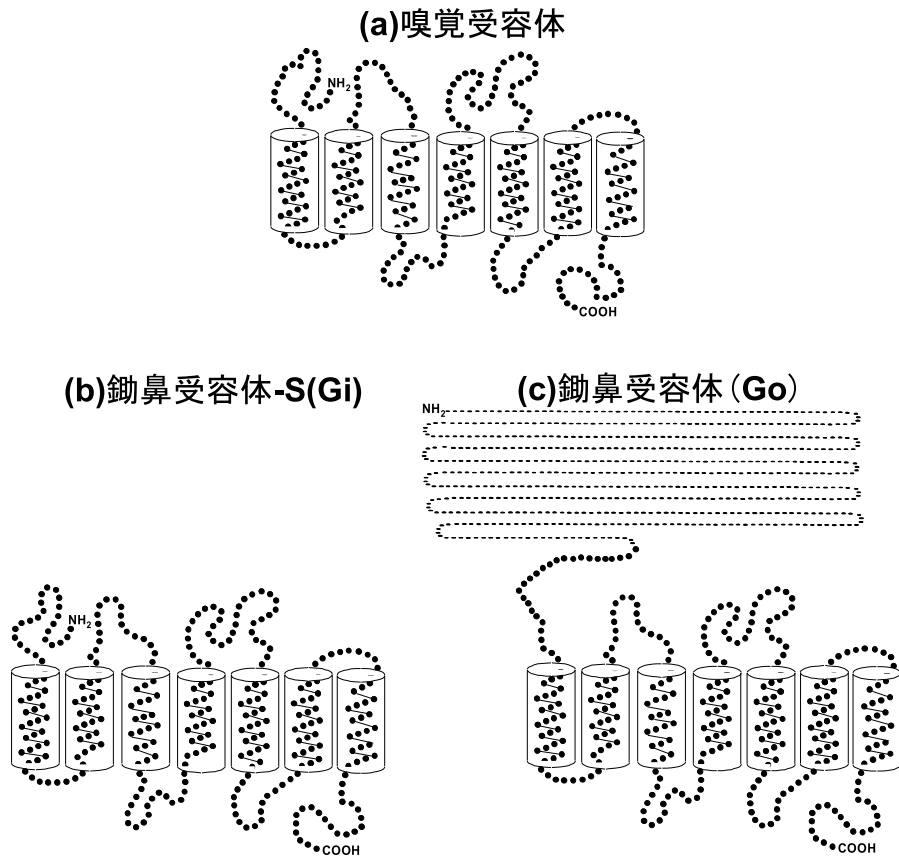


図4 嗅覚受容体(a)および鋤鼻受容体(b, c)

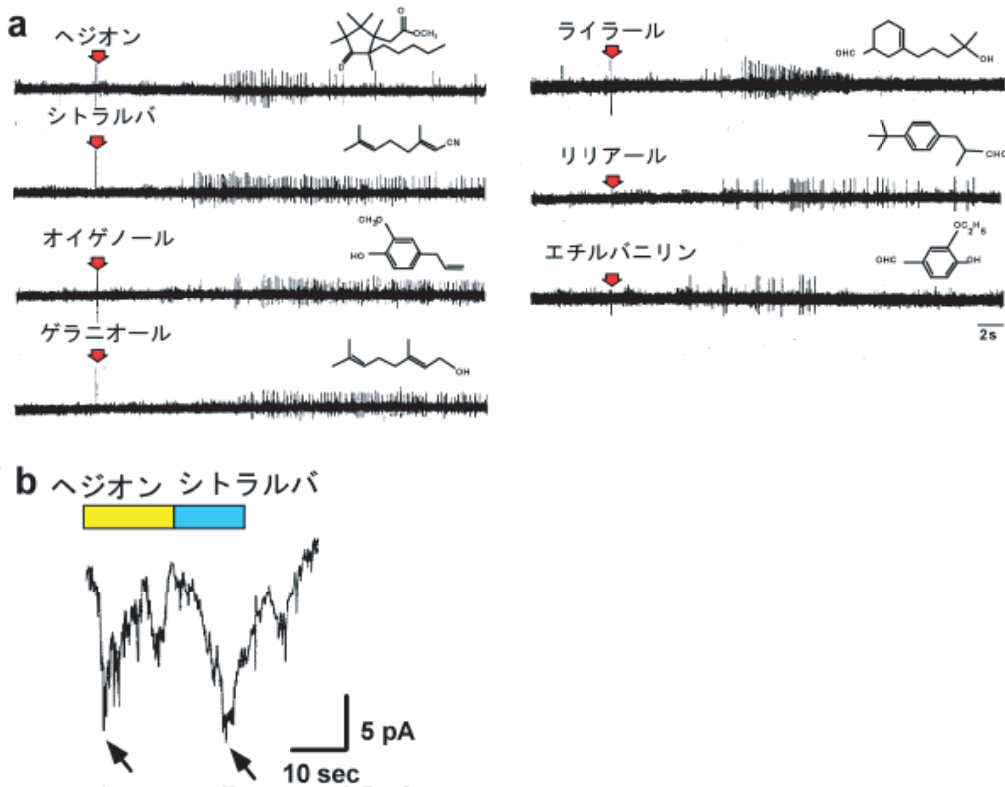


図5 ウシガエル単一嗅細胞の各種におい物質に対する応答およびウシガエル単一嗅細胞におけるにおい識別

はともに、単一の嗅細胞に応答を引き起こした¹⁷⁾。他の嗅細胞でも同様な実験をすると、約75%の細胞が両方の性質を有するにおい物質に応答した。刺激物質ごとに一つの受容体が違う細胞内情報伝達経路と共役することは一般的に考えにくい。

単一嗅細胞を用いた交差順応実験は、単一嗅細胞に複数のにおい受容体が存在することを直接的に示した。たとえば、ウシガエルの遊離嗅細胞にヘジオンを与え続け、ヘジオンに対する応答が順応した後に続けてシトラルバを与えると新たな応答が生じた (図 5b)¹⁷⁾。この結果は、最低 2 種類のにおい受容体が一つの嗅細胞に存在することを明確に示している。単一の嗅細胞には一種類の嗅覚受容体しか存在しないので、今までにクローニングされた嗅覚受容体ファミリー以外のおい受容体がにおい受容に重要な役割を演じていると考えられる。Fesenko のグループは、嗅覚受容体とは分子量の異なる蛋白質がにおい物質に結合する能力を有していると報告している。この蛋白質がにおい受容体として機能するかどうかは明かではないが、今後、新しい受容体の発見される可能性が考えられる。また、今までの概念で考えられる蛋白質である受容体とは異なり、細胞膜に存在する脂質により“受容体”が形成されているものと思われる。

3) 嗅覚受容体を介さないにおい応答

アフリカツメガエルは生活のほとんどを水中で送っているが、時々水面に顔を出して空気を鼻から吸い込んで呼吸している。このために、アフリカツメガエルの嗅覚器は、水上に顔を出したときに揮発性のおいを嗅ぐ哺乳動物型の嗅覚受容体が存在する主憩室と水中で水溶性のおいを嗅ぐ魚類型の嗅覚受容体が存在する中憩室とに弁により分割されている。サカナ型嗅覚受容体と哺乳動物型の嗅覚受容体とのアミノ酸の相性は30から40%と低いために、それぞれアミノ酸と揮発性におい物質を選択的に受容していると考えられている。しかしながら、中憩室には哺乳動物型の嗅覚受容体が全く存在しないにもかかわらず、アミノ酸に反応するだけではなくおよそ半分の嗅細胞は揮発性におい物質にも反応した¹⁸⁾。また、におい物質は、嗅細胞以外の細胞に反応を引き起こす。たとえば、カメの三叉神経は、カメの嗅覚器と同程度の高感度で、各種のにおいに反応する。また、カタツムリの巨大細胞、

神経芽細胞腫、カエル味細胞も、各種のにおいに対して反応する。さらに、細胞膜の同様の構造を有する脂質二重層膜で形成されている人工小胞 (リポソーム) も嗅細胞に匹敵する感度でにおい反応を示す¹⁹⁾。これらの結果は、揮発性におい受容には必ずしも嗅覚受容体を必要としない場合があることを示唆した。

6. 生理活性を有するにおい

最近では、民間療法として発展してきたアロマセラピーを科学的に検証する試みがなされている。新島と永井は、グレープフルーツやレモンの香気成分が白色脂肪細胞を支配している交感神経の活動を昂進させる効果を有することを生理学的に示した²⁰⁾。また、ヒトでも内分泌系に変化を引き起こすフェロモンが引き起こす生理作用が見いだされ、その一つは、ドミトリー (寄宿舎) 効果と呼ばれている。共同生活をしている女性同士の月経周期は、だんだん同期してくる。この現象が寄宿舎で共同生活している女子学生の間で初めて科学的に証明されたことから、寄宿舎効果と名付けられた。最近、月経周期を延長するフェロモンと短縮するフェロモンがヒトに存在することが明らかになった。また、フェロモンを受容する可能性を有する遺伝子がヒトのジェノミック DNA から見つかった。フェロモンは、主として鋤鼻器と呼ばれる器官で受容される。ヒト胎児では、鋤鼻器とともに鋤鼻器から中枢へ投射する神経繊維が確認されているが、大人では特に退化している。今回見つかった受容体は、一般においを受容している嗅上皮に存在することが示されている。

7. 鋤鼻器感覚細胞におけるフェロモン情報の変換機構

鋤鼻感覚上皮に存在する鋤鼻器感覚細胞は、フェロモンが持つ化学的な情報を脳における情報処理が可能となる電気的な情報に変換する役割を担っている。哺乳動物の鋤鼻器感覚細胞の情報変換機構は、嗅細胞のそれとはやや異なっている。例えば、cAMP がフェロモン受容における主要な情報伝達経路には寄与しない。哺乳動物の場合、フェロモンの受容に IP_3 がセカンドメッセンジャーとして働いている可能性が高い。ラットではフェロモンが鋤鼻器感覚上皮の膜標品の IP_3 産生を促進させる²¹⁾。 IP_3 の合成酵素であるホスホ

リパーゼCの阻害剤がフェロモンに対する応答を阻害した²²⁾。また、ラット²³⁾やハムスターの鋤鼻器感覚細胞にIP₃を注入すると、興奮性の電気的な応答が発生した。これらの結果は、フェロモンがIP₃の産生を引き起こし、IP₃作動性チャネルを開口させることにより受容器電位を発生させることを示唆する。

8. フェロモンの識別機構

鋤鼻器感覚細胞のフェロモン選択性は、嗅細胞と違い非常に高い。Inamuraらが同系統のオスとメスのウイスター系ラットの尿、他系統のドンリユー系ラットおよびSD系ラットのオスの尿を与えて、鋤鼻器感覚細胞の応答を測定したところ、ほとんどの細胞は、一種類の尿にのみ応答した²⁵⁾。フェロモンによりIP₃が産生されるためには、GiやGoなどのGTP結合タンパク質を介することが必要となる。Halpernのグループは、ラットやマウスなどの鋤鼻器感覚上皮内でのGTP結合蛋白質の分布を解析した。その結果、感覚上皮内の感覚細胞が存在する層の上部ではGiを有

する細胞が存在し、下部ではGoを有する細胞が存在していた(図6)。

DulacとAxelは、ラットの鋤鼻器から鋤鼻器に特異的に発現している受容体(鋤鼻器受容体-S)をクローニングした(図4b)。この受容体ファミリーは、100個近い遺伝子から構成されていると考えられている。In situ hybridization法による解析から、鋤鼻器受容体-SはGiを発現している細胞が局在している感覚上皮の上部の感覚細胞に発現していることが示された。また、マウスやラットの鋤鼻器から、通常受容体よりも細胞外に露出しているN-端側の構造が長い受容体ファミリーがクローニングされた(図4c)。このタイプの受容体は、Goを発現している細胞が存在している感覚上皮の下部に存在する細胞に局在していた。

筆者らは、感覚上皮内のどの位置にある細胞が各種尿フェロモンに対して電気的な応答を示すかを調べた。この結果、図6bに示すように、各尿フェロモンに反応する感覚細胞は、鋤鼻器受容体やGTP結合蛋

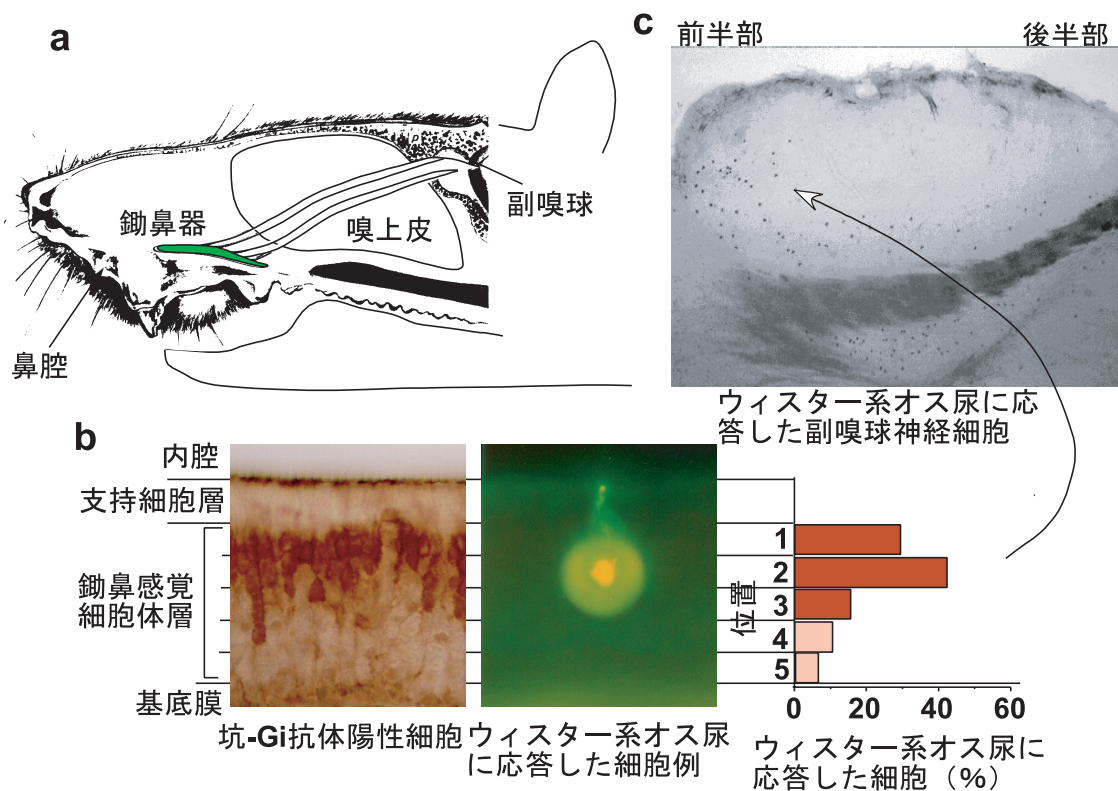


図6 ラットの鋤鼻器(a)と、鋤鼻感覚上皮で層状に観察されるGi発現細胞(抗Gi抗体陽性細胞)および感覚上皮の各層で見られたウイスター系メスラット鋤鼻感覚細胞のウイスター系オスラット尿中フェロモンに対する応答(b)、ウイスター系オスラット尿中フェロモン提示後で興奮したウイスター系メスラット副嗅球神経細胞(c)。

白質に対応するように層状に存在していた。例えば、オスのウィスター系ラットの尿は、メスの感覚上皮の上部に存在している Gi を発現している感覚細胞に選択的に応答を引き起こした²⁴⁾。一般に神経細胞が活動すると、Fos と呼ばれる蛋白質が産生されることが知られている。副嗅球における Fos 蛋白質の発現を免疫染色法により調べると、ウィスター系オスラットの尿を提示した後に副嗅球の吻側部に抗 Fos 抗体陽性細胞を数多く認めた (図 6c)²⁵⁾。これらの結果は、抗 Gi 抗体陽性の鋤鼻器感覚細胞において Gi を介して神経インパルスに変換されたフェロモン情報が、副嗅球の吻側部に伝えられることを示唆している。

引用文献

- 1) Willis CM, Church SM, Guest CM et al.: Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study. *BMJ* 329, 1-6, 2004.
- 2) Phillips M, Gleeson K, Hughes JM, et al. : Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. *Lancet* 353, 1930-1933, 1999.
- 3) Talamo BR, Rudel R, Kosik KS, et al. : Pathological changes in olfactory neurons in patients with Alzheimer's disease. *Nature* 337, 736-739, 1989.
- 4) Trojanowski JQ, Newman PD, Hill WD, et al. : Human olfactory epithelium in normal aging, Alzheimer's disease, and other neurodegenerative disorders. *J. Comp. Neurol.* 310, 365-376, 1991.
- 5) Rawson NE, Gomez G, Cowart B, et al. : The use of olfactory receptor neurons (ORNs) from biopsies to study changes in aging and neurodegenerative diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 855, 701-707, 1998.
- 6) Zatorre RJ, Jones-Gotman M, Evans AC, et al. : Functional localization and lateralization of human olfactory cortex. *Nature* 360, 339-340, 1992.
- 7) Murphy C, Jernigan TL, and Fennema-Notestine C. : Left hippocampal volume loss in Alzheimer's disease is reflected in performance on odor identification: a structural MRI study. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 9, 459-471, 2003.
- 8) Tanabe T, Iino M, and Takagi SF. : Discrimination of odors in olfactory bulb, pyriform-amygdaloid area, and orbitofrontal cortex of the monkey. *J. Neurophysiol.* 38, 1284-1296, 1975.
- 9) Koss E, Weiffenbach JM, Haxby JV, et al. : Olfactory detection and recognition in Alzheimer's disease. *Lancet* 1, 622, 1987.
- 10) Gudino-Cabrera G, Pastor AM, De la Cruz RR, et al. : Limits to the capacity of transplants of olfactory glia to promote axonal regrowth in the CNS. *Neuroreport* 11, 467-471, 2000.
- 11) Gheusi C, Cremer H, McLean H, et al. : Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 1823-1828, 2000.
- 12) 本田典子, 松本有子, 稲村耕平ら. : ラット嗅球および副嗅球における BrdU 陽性細胞. *味と匂学会誌*, 7, 405-408, 2000.
- 13) Bernier PJ, Vinet J, Cossette M, et al. : Characterization of the subventricular zone of the adult human brain: evidence for the involvement of Bcl-2. *Neurosci. Res.* 37, 67-78, 2000.
- 14) Kashiwayanagi M, Tatani K, Shuto S, et al. : Inositol 1,4,5-trisphosphate and adenophostin analogues induce responses in turtle olfactory sensory neurons. *Eur. J. Neurosci.* 12, 606-612, 2000.
- 15) Kashiwayanagi M, Kawahara H, Hanada T, et al. : A large contribution of a cyclic AMP-independent pathway to turtle olfactory transduction. *J. Gen. Physiol.* 103, 957-974, 1994.
- 16) Sekimoto K, and Kashiwayanagi M. : Inward currents and increases in cytosolic Ca²⁺ concentration induced by cyclic ADP-ribose in turtle olfactory receptor cells. *Chem. Senses* 28, 415-422, 2003.
- 17) Kashiwayanagi M, Shimano K, and Kurihara K. : Existence of multiple receptors in single neurons: Responses of single bullfrog olfactory neurons to many cAMP-dependent and independent odorants. *Brain Res.* 738, 222-228, 1996.
- 18) Iida A, and Kashiwayanagi M. : Responses to putative second messengers and odorants in water nose olfactory neurons of *Xenopus laevis*. *Chem. Senses* 25, 55-59, 2000.
- 19) Enomoto S, Kashiwayanagi M, and Kurihara K. : Liposomes having high sensitivity to odorants. *Biochim. Biophys. Acta* 1062, 7-12, 1991.
- 20) Nijima A, and Nagai K. : Effect of olfactory stimulation with flavor of grapefruit oil and lemon oil on the activity of sympathetic branch in the white adipose tissue of the epididymis. *Exp. Biol. Med. (Maywood.)* 228, 1190-1192, 2003.
- 21) Sasaki K, Okamoto K, Inamura K, et al. : Inositol-1,4,5-trisphosphate accumulation induced by urinary pheromones in female rat vomeronasal epithelium. *Brain Res.* 823, 161-168, 1999.
- 22) Inamura K, Kashiwayanagi M, and Kurihara K. : Regionalization of Fos immunostaining in rat accessory olfactory bulb when the vomeronasal organ was exposed to urine. *Eur. J. Neurosci.* 11, 2254-2260, 1999.
- 23) Inamura K, Kashiwayanagi M, and Kurihara K. : Inositol-1,4,5-trisphosphate induces responses in receptor neurons in rat vomeronasal sensory slices. *Chem. Senses* 22, 93-103, 1997.
- 24) Inamura K, Matsumoto Y, Kashiwayanagi M, et al. : Laminar distribution of pheromone-receptive neurons in rat

vomeronasal epithelium. J. Physiol. (Lond.) 517, 731-739, 1999.

25) Inamura K, Kashiwayanagi M, and Kurihara K. : Re-

gionalization of Fos immunostaining in rat accessory olfactory bulb when the vomeronasal organ was exposed to urine.

Eur. J. Neurosci. 11, 2254-2260, 1999.

Olfactory Systems and Medicine

KASHIWAYANAGI Makoto*

Summary

There are various connection between odor and medicine. In this review, characteristics of olfactory systems are discussed with connection to medicine. Pheromones affect gonadal functions and sexual behaviors. They are received by the vomeronasal organ as well as by the main olfactory organ. Binding of chemical stimuli to olfactory G-protein-coupled receptors (GPCRs) has generally been considered to lead to the accumulation of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in olfactory neurons and to the activation of cAMP-gated channels, causing cell depolarization and olfactory nerve responses. This scheme is, however, not fully consistent with experimental data from various olfactory sensory neurons. The results obtained by *in situ* hybridization showing that single neurons have only one type of olfactory GPCR cannot simply explain the observation that single olfactory neurons respond to various species of odorants. Various pathways in olfactory transduction are discussed here. In contrast, the mechanism of discrimination and transduction in pheromone reception is simple. Most vomeronasal sensory neurons receive only one kind of pheromone. Pheromonal reception is mediated via the inositol-1,4,5-trisphosphate (IP₃)-dependent pathway.

Key words odor, olfactory cell, transduction mechanism, pheromone

*Department of Physiology, Asahikawa Medical College