

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19617

研究課題名（和文）嗅覚過敏モデルを用いたメカニズムの解析と治療薬の開発

研究課題名（英文）Research into the causes and treatment of olfactory hypersensitivity

研究代表者

島田 昌一（Shimada, Shoichi）

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20216063

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：嗅覚障害の1つに嗅覚過敏がある。自分にとって有害、危険、つらい状況に遭遇すると、周囲のにおいとそのネガティブな体験が関連づけられて記憶、条件づけされる。そして、その状況からいち早く回避するため、そのにおいに対する感受性が高くなり嗅覚過敏になると同時に、そのにおいに対して強い嫌悪感をいだくようになる。本研究では嗅覚過敏を研究するため、確実な嗅覚過敏モデルの作成方法の確立とその治療薬の開発を試みた。微量のにおい物質をマウスに飲水させることによりマウスは口腔内で揮発する微量のにおい分子を感知する。その後マウスの腹腔にLiCl溶液を注射することにより、マウスの嗅覚過敏・嫌悪学習モデルを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

家、学校、職場などの建物では、普段あまり感じられないような微弱な固有のにおいが存在する。学校や職場でいじめやハラスメントなどトラウマになるような体験をすると、ヒトは無意識のうちに、その建物のにおいのする場所でつらい思いをするというような条件づけが起こり、学校や職場の建物に近づき、そのにおいを感じると、咳嗽、動悸、過呼吸、めまい、頭痛などの自律神経症状や不定愁訴が現れ、嗅覚過敏の症状が発症する場合がある。また最終的に登校拒否、出勤拒否、引きこもりなどの原因にも繋がると考えられる。本研究では、これらの嗅覚過敏モデル動物の作製方法を確立し、治療法の開発につなげることを目指す。

研究成果の概要（英文）：Hyperosmia is one of the olfactory disorders. When mice encounter a situation that is harmful and dangerous, the surrounding odor and its negative experience are conditioned. In order to avoid the situation quickly, the mice become more sensitive to the odor and show an aversive reaction to the odor. In order to study hyperosmia, we attempted to establish a method for creating a reliable model of olfactory hypersensitivity and try to develop a therapeutic drug. When mice drink a trace amount of odor substance, the mice sense a trace amount of odor molecules that volatilize in the oral cavity. We have developed a hyperosmia/aversive conditioning model using these mice with intraperitoneal injection of LiCl.

研究分野：神経科学、神経解剖学

キーワード：嗅覚過敏 嫌悪学習 嗅覚

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々は慢性疼痛の研究を行っている過程で、パブロフの条件反射と同様の条件づけが関与する疼痛に着目するようになった。例えば腰痛の患者では、腰を曲げると強い痛みが生じるという条件づけが繰り返すことにより、腰を痛めることを未然に防ぐために、痛みの感受性が増加して腰を少し曲げようとしただけでも痛みが走るようになる場合がある。このようなケースでは、腰痛の原因の炎症がほとんど治った後でも、腰の痛みが継続し改善しない場合がある。痛みに関してこのような条件づけが脳内で形成されると、それが難治性の慢性疼痛などの長期にわたる疼痛の原因の1つになると考えられた。

(2) 嗅覚過敏に関してもこのような条件づけが原因となるものが数多く存在するのではないかと我々は考えている。自分にとって有害、不利益、危険、つらい状況に遭遇すると、その時の周囲においてそのネガティブな経験が関連づけられて記憶され、条件づけされる。さらに、この条件づけが社会的ストレスの場合に、学校や職場の部屋や建物の意識に感じられないような微弱なおいが原因となり心的外傷後ストレス障害 (PTSD) や、引きこもりなどの要因となる可能性がある。

2. 研究の目的

(1) 過敏はほとんどの場合、その対象となるにおいに対して強い嫌悪感をいだいている。この嗅覚過敏の発症のメカニズムの1つとして、パブロフの条件づけが考えられる。においと嫌悪刺激が同時にセットで発生すると、においと嫌悪刺激が関連づけられた形で記憶される。そして、嫌悪刺激をいち早く回避するため、そのにおいに対する感受性が高くなり嗅覚過敏になると同時に、そのにおいに対して強い嫌悪感をいだくようになる。また、そのにおいによって咳嗽、動悸、めまい、頭痛などの自律神経症状が現れ、シックハウス症候群のような嗅覚過敏と不定愁訴の症状が現れる。これらの症状は、におい物質が非常に微量の場合でも起こるため、におい物質自体の毒性や、アレルギー反応が原因であるよりも、むしろ嫌悪学習によって嫌悪反射が形成されたと考えられる。

(2) さらに、この嫌悪刺激が社会的ストレスの場合は、学校や職場の建物のおいがトリガーとなる心的外傷後ストレス障害 (PTSD) やパニック障害、引きこもりなどの原因にもなる。一般的な心的外傷後ストレス障害の場合、視覚や聴覚に対応した部分が多いため、本人も他人もその原因を特定しやすい。一方、においに基づいた心的外傷後ストレス障害の場合は、目に見えるものや聞こえるものではないので、その原因が分かりにくい場合が多い。原因不明のパニック障害に分類されている病態の中には、この様なにおいの条件づけに起因するものが相当数有ると考えられる。この様に嗅覚過敏は QOL に大きな影響を与えるが、複雑で多様な病態をしているので、まだあまり研究が進んでいない。本研究ではこれらの嗅覚過敏のメカニズムを解析し、その治療薬の開発に挑戦することにある。

3. 研究の方法

(1) おい条件づけによる恐怖記憶、嫌悪学習を伴う嗅覚過敏モデルの確立

我々はマウスを用いてにおい条件づけによる嫌悪学習を伴う嗅覚過敏モデルの作製を試みた。味がほとんど生じないような微量のにおい物質を飲水用のボトルに入れ、マウスに与えると、マウスは、口腔内で揮発するにおい物質のにおいを感知することができる。飲水制限をした後に、短時間でにおい物質を含んだ水をマウスに飲ませ、その後マウスの腹腔に LiCl の溶液を注射すると、マウスは腹痛を起こす。このことによってにおい条件づけによる嫌悪学習の系が形成される。嫌悪学習が成立した後、two-bottle 試験により、におい物質の入った水の間でのマウスの嗜好性を測定し、嫌悪学習の評価をする。

実験方法の詳細は、

- ① 実験1～2日目は、1日30分間のみの給水を可能とし、その他の時間帯は水を飲めなくした。
- ② 実験3日目に Vanilla essence と Almond essence を 0.1%含んだ液を飲ませ、two-bottle 試験を行った。
- ③ 実験4日目に30分間の給水時に Vanilla 溶液を飲ませ、給水終了時にマウスに LiCl (50.2mg/kg) を腹腔内注射した。
- ④ 実験5日目に Vanilla と Almond の two-bottle 試験を30分間行った。

(2) おい条件づけによる嫌悪学習や恐怖記憶の症状を改善させる薬剤の検索

嗅覚過敏の治療方法を考えるため、におい条件づけによる嫌悪学習に対して、軽減効果のある薬剤の検索を行った。恐怖記憶の消去学習を、促進する薬剤の報告があるため (文献①)、本実験でにおい条件づけを行ったマウスにその薬剤を投与し、嫌悪学習を伴う嗅覚過敏モデルに対して効果があるかどうかを検討した。

実験方法の詳細は、

- ① 先程の研究の方法1)の実験の5日目の④まで同様の方法で実験を進めた。
- ② 6日目にマウスを2つの群に分け、1つの群には SR57227A を 10mg/kg を腹腔内に投与し、

もう一方の群には vehicle を腹腔内に投与した。30分後に両群において Vanilla と Almond の two-bottle 試験を30分間行った。

4. 研究成果

(1) いくつかの条件で検討し、においの条件づけによる嫌悪学習・痛覚過敏モデルを作製する方法をマウスで見出した(3. 研究の方法の(1))。LiClを投与する前に、3日目に Vanilla と Almond の two-bottle 試験を行った結果、Vanilla ののにおいに対して高い嗜好性を示した(図1)。

(2) その後、4日目に Vanilla の液のみを30分間飲ませた後に、マウスに LiCl を腹腔に投与して腹痛を生じさせ、5日目に再び Vanilla と Almond の two-bottle 試験を行った結果、vanilla に対する嗜好性が低下した(図1)。この結果は、vanilla ののにおいと LiCl による条件づけが成立し、マウスの嫌悪学習モデルができたことを意味する。

(3) 次に、このにおいの嫌悪学習モデルを用いて、においの条件づけによる嫌悪学習や嗅覚過敏の症状を改善させる薬剤を検索した。我々は以前に、恐怖記憶の消去学習に、5-HT₃ 受容体が必要であることを明らかにし、5-HT₃ 受容体ノックアウトマウスが PTSD のモデルとなり得ることを示した(文献②)。また、Wuらはストレス負荷をかけたラットに恐怖条件づけを行い、恐怖記憶の消去学習が困難となるラットを作製し、PTSD のモデルとした。

彼らはこのモデルに事前に 5-HT₃ 受容体アゴニストの SR57227A を投与することにより、恐怖記憶の消去学習を、ストレスをかけていないラットのレベルまで戻すことに成功した(文献①)。そこで、我々は本実験でにおいの条件づけを行ったマウスに SR57227A を投与し、嫌悪学習を伴う嗅覚過敏モデルに対して効果があるかどうかを検討した。Vanilla と Almond の two-bottle 試験を行う30分前に SR57227A を 10mg/kg を腹腔内に投与したが、Vanilla に対する嗜好性は変化しなかった。Wuらが PTSD モデルに対して SR57227A の効果を示した実験では、条件づけよりも前のストレス負荷の時期に SR57227A を投与して効果を示していた。この実験では、two-bottle 試験の直前に SR57227A を投与したが、今後は SR57227A に関しても投与のタイミングや異なる dose で試してみる必要がある。また、SR57227A 以外にも、Selective Serotonin Reuptake Inhibitors(SSRI)を含めた PTSD に効果を示す報告がある薬について、今後検討を加えていきたい。

(4) 嗅覚過敏やにおいの嫌悪学習に関して、脳のどの部位が関与しているかについて、本研究でにおいの嫌悪学習のモデルを用いて、脳内の c-fos や Arc などの神経細胞の活動マーカーを組織学的に検出することにより、においによる嫌悪学習や嗅覚過敏の形成に関わる脳の部位を同定、解析する必要がある。我々の文献②やその他の仕事からも、扁桃体や海馬が、嗅覚過敏やにおいの嫌悪学習に関わっている可能性が高いので、これらの領域を中心に解析していきたい。

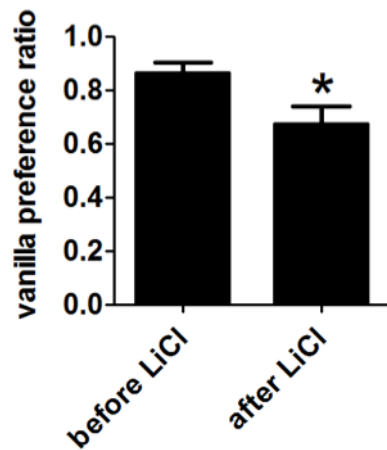


図1 おおいの条件づけによる嫌悪学習

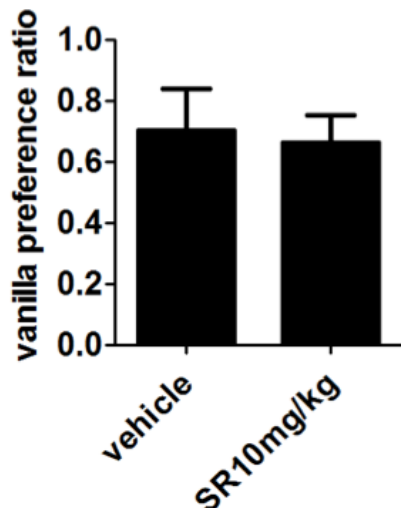


図2 SR57227A を用いた検討

<引用文献>

- ① Wu ZM, Yang LH, Cui R, Ni GL, Wu FT, Liang Y. Cellular and Molecular Neurobiology 2017, 37, 595-606.
- ② Kondo M, Nakamura Y, Ishida Y, Yamada T, Shimada S. The 5-HT_{3A} receptor is essential for fear extinction. Learn Mem. 2014, 21:1-4.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kobayashi Y, Imamura R, Koyama Y, Kondo M, Kobayashi H, Nonomura N, Shimada S	4. 巻 10
2. 論文標題 Renoprotective and neuroprotective effects of enteric hydrogen generation from Si-based agent.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 5859
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-62755-9.	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 Nakamura Y, Kondo M, Koyama Y, Shimada S	4. 巻 59
2. 論文標題 Yokukansan-induced reduction of ethanol preference is associated with T antagonism of 5-HT3 receptors.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Phytomedicine	6. 最初と最後の頁 152897
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.phymed.2019.152897	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 Kamakura T, Kitahara T, Kondo M, Horii A, Hanada Y, Takimoto Y, Ishida Y, Nakamura Y, Imai T, Inohara H, Shimada S	4. 巻 24
2. 論文標題 Rat model of Meniere's Attack: intratympanic injection of potassium chloride produces direction-changing spontaneous nystagmus and hearing fluctuations.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Audiol Neurotol	6. 最初と最後の頁 217-223
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000502275	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 Ishida Y, Sugiura Y, Magome T, Kamakura T, Takimoto Y, Hanada Y, Kitayama K, Nakamura Y, Shimada S, Ohta N, Naono-Nakayama R, Kamiyo K	4. 巻 411
2. 論文標題 Expression Analysis of Serotonin Receptors, Serotonin Transporter and l-Amino Acid Decarboxylase in the Mouse Sphenopalatine Ganglion by RT-PCR, Northern Blot Analysis and In Situ Hybridization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 23-36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2019.05.028.	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 Nakamura Y, Kondo M, Koyama Y, Shimada S	4. 巻 508
2. 論文標題 SR 57227A is a partial agonist/partial antagonist of 5-HT3 receptor and inhibits subsequent 5-HT- or SR 57227A-induced 5-HT3 receptor current.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 590-596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.11.174	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 Nakamura Y, Ishida Y, Kondo M, Shimada S	4. 巻 43
2. 論文標題 Yokukansan contains compounds that antagonize the 5-HT3 receptor.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Phytomedicine	6. 最初と最後の頁 120-125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phymed.2018.04.034	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 -

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 近藤誠、小山佳久、中村雪子、白井紀好、島田昌一
2. 発表標題 5-HT3受容体を介する新たな抗うつメカニズム
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koyama Y, kondo M, Shimada S
2. 発表標題 The significance of complete distributional analysis of the 5-HT3A receptor
3. 学会等名 第61回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kondo M, Koyama Y, Nakamura Y, Usui N, Shimada S
2. 発表標題 A novel 5HT3 receptor-IGF1 mechanism distinct from SSRI-induced antidepressant effects
3. 学会等名 第61回日本神経化学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	近藤 誠 (Kondo Makoto) (50633012)	大阪大学・医学系研究科・准教授 (14401)	
研究分担者	中村 雪子 (Nakamura Yukiko) (90548083)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	
研究分担者	小山 佳久 (Koyama Yoshihisa) (40397667)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	