

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861409

研究課題名(和文) 鼻炎マウスにおける嗅覚障害の治療

研究課題名(英文) Treatment for smell disorder in the mice with allergic rhinitis

研究代表者

尾崎 慎哉 (Ozaki, Shinya)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：70646455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,700,000円

研究成果の概要(和文)：アレルギー性鼻炎における嗅覚機能不全のメカニズムについてはほとんどわかっていない。嗅覚障害を持つアレルギー性鼻炎患者であってもその背景は様々であり、アレルギー性鼻炎が嗅覚障害の原因と断定することが困難なためである。本研究ではアレルギー性鼻炎モデルマウスによる嗅覚障害につき検討した。卵白アルブミンを用いてアレルギー性鼻炎モデルマウスを作成し、Y字迷路に入れたところ、出口までの到達時間が延長した。ステロイド点鼻により治療した場合は、出口への到達時間が短縮した。以上の所見よりアレルギー性鼻炎モデルマウスにおける嗅覚障害の存在が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Little is known about the mechanism of olfactory dysfunction in allergic rhinitis. The background of allergic rhinitis patients with olfactory disorder is different, which makes it difficult to conclude that the cause of olfactory disorder. In this study, we examined the olfactory failure due to allergic rhinitis mouse model. When placed in a Y-maze, allergic rhinitis model mice was difficult to reach the outlet. After treatment with nasal steroid, shortened time was observed. These findings suggest the presence of olfactory disorder in allergic rhinitis mouse model.

研究分野：嗅覚障害

キーワード：嗅覚障害 アレルギー性鼻炎

1. 研究開始当初の背景

嗅覚障害は障害部位から、呼吸性嗅覚障害、末梢神経性嗅覚障害、中枢性嗅覚障害に分類される。呼吸性嗅覚障害はにおい物質の嗅粘膜への到達不全による障害である。末梢神経性の嗅覚障害は嗅神経の障害による嗅覚障害である。中枢性の嗅覚障害は脳障害などによる嗅覚障害である。

嗅覚障害の原因疾患はさまざまである。インフルエンザなど風邪によるものや、脳梗塞、パーキンソン病など脳疾患や、抗がん剤など薬剤の副作用によることもある。原因がわかっているもののうち最大のものが、鼻炎・副鼻腔炎によるものである。アレルギー性鼻炎をもつ患者において嗅覚の機能障害は報告されていたが従来、ポリープなどの障害を持つ患者が嗅覚障害を来たすと考えられていた。しかしながらそのような所見のないアレルギー性鼻炎患者にも嗅覚障害を来たすことがわかってきた。

背景のまとめ

- ・嗅覚障害は障害部位から、匂い物質の到達不全による呼吸性嗅覚障害と、嗅神経の障害による末梢神経性嗅覚障害、中枢性の嗅覚障害（脳腫瘍、脳梗塞などの障害に伴う）に分類することができる。

- ・嗅覚障害の原因は様々であるが最も大きな原因は、鼻炎・副鼻腔炎によるものと言われている。

- ・アレルギー性鼻炎患者の嗅覚障害は呼吸性嗅覚障害と言われていたが、嗅神経性嗅覚障害の可能性があると指摘されていた。

- ・今までの研究にて嗅神経性の嗅覚障害の可能性を示した。

2. 研究の目的

アレルギー性鼻炎における嗅覚機能不全のメカニズムについてはほとんどわかっていない。理由として臨床上、人の嗅部粘膜を採取し嗅覚障害を検討することは、倫理上困難である点、また嗅覚障害を持つアレルギー性鼻炎患者であってもその背景は様々であり、アレルギー性鼻炎が嗅覚障害の原因と断定することが困難なためである。

臨床上神経障害性の嗅覚障害の患者の場合、症状が持続する例があることが指摘されているが、アレルギー性鼻炎の嗅覚障害モデ

ルでどのような結果ができるかは研究された論文は見受けられない。

現在ではアレルギー性鼻炎による嗅覚障害は閉塞性嗅覚障害と一般的に考えられており、その原因が神経障害であると確実に証明された場合、根源的な変化と考えられる。そのため動物モデルにおいてアレルギー性鼻炎による嗅覚障害の原因を明らかにする必要があると思われる。

3. 研究の方法

(1) モデルマウスの作製

アレルギー性鼻炎モデルマウスは、今までと同様に OVA アルブミン（卵白アルブミン）の腹腔内投与、および鼻腔内投与によって作製を行う。その後、アレルギー性鼻炎モデルマウスの嗅覚機能を、飲水行動の回避行動の正答数を測定したにおい検出能力テスト：odor detection test、及びマウス嗅球での局所電位：local field potential (LFP) の変化によって再度評価を行う。行動解析において新たに 8 方向放射状迷路による餌への到達正答率を測定する予定である。

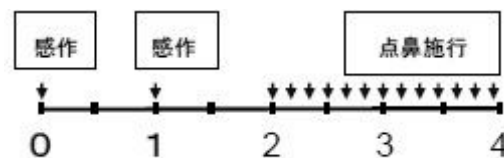


図1 アレルギーモデルマウスの作成

(2) ステロイド点鼻による治療効果

アレルギーモデルマウスに毎日 1 回ずつステロイド点鼻液（リンデロン点鼻液）を施行する。アレルギー状態を保つため抗原点鼻も並行して行う。1 週間毎に嗅部粘膜を採取し鼻内好酸球浸潤の変化、嗅腺組織の変化などについて HE 染色、PAS 染色を施行し変化を確認する。行動解析もマウス毎に施行し正答率の上昇の確認を行う。

(3) 組織学的検討

嗅部は副鼻腔深部のためマウスを固定後、頭骨の脱灰を行う。パラフィン標本と凍結標本を作成し免疫染色を行う。免疫染色の抗体として嗅神経特異的な OMP (olfactory marker protein) を染色し粘膜表面の神経密度、嗅小胞、嗅系の増減などを確認する。ま

た MBP (major basic protein) EPO (eosinophil peroxidase) など嗅神経特異的な抗体を染色することにより神経障害について検討する。

4. 研究成果

(1) モデルマウスの作製

まず、以前の我々の報告と同様に OVA 抗原を腹腔内に投与し、その後2週間鼻腔内に OVA 抗原を投与することによりアレルギー性鼻炎マウスを作製した。このアレルギー性鼻炎マウスを組織所見、臨床所見（鼻汁、鼻こすり）などから以前のモデルと同様か確認を行った。

(2) 嗅覚障害の検討

その後 Y 字迷路を用いてマウスが目標物まで到達する時間を比較検討した。コントロールマウスでは 31 秒であったが、アレルギーマウスで平均 155 秒と延長し、アレルギーマウスにおける嗅覚障害が認められた。

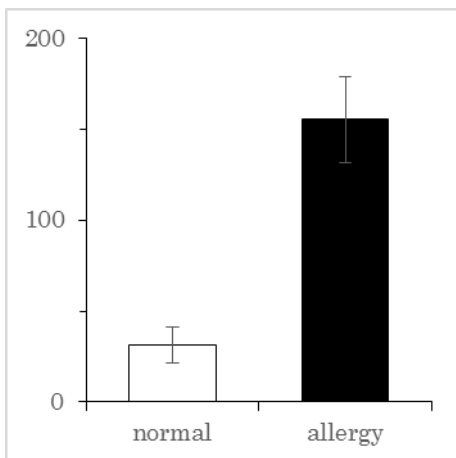


図2 到達時間

(3) ステロイド点鼻による治療効果

同様のアレルギーマウスを作製した後にリンデロンを2週間点鼻して治療を行ったところ、平均 60 秒と改善し嗅覚障害が改善したと考えられた。一方、コントロールとして生理食塩水を点鼻したマウスも作製したが、到達時間の短縮は認められなかった。

(4) IgE、組織学的検討

現在これらのマウスの血清を採取し、IgE に変化があるか ELISA で検討しているところである。また頭部を採取し、嗅裂を含む組織切片を作成している。嗅裂における組織変化、好酸球の変化を組織学的に検討している。また、OMP、MBP、EPO などの発現を検討し、嗅神経特異的な抗体を染色し、嗅神経障害の程度、部位などにつき検討する予定である。

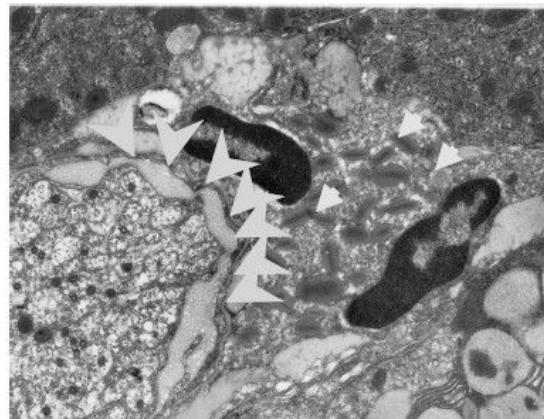


図3 小さい矢印が好酸球、大きい矢印が嗅神経を示す

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Cytokine modulation by IL-35 in mice with allergic rhinitis.

Yokota M, Suzuki M, Nakamura Y, Ozaki S, Murakami S.

Am J Rhinol Allergy. 2015

Jul-Aug;29(4):251-6.

査読有

10.2500/ajra.2015.29.4188

Optimal duration of macrolide treatment for chronic sinusitis after endoscopic sinus surgery.

Nakamura Y, Suzuki M, Yokota M, Ozaki S, Ohno N, Hamajima Y, Nakayama M, Hashiba M, Murakami S.

Auris Nasus Larynx. 2013

Aug;40(4):366-72.

査読有

10.1016/j.anl.2012.09.009

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾崎 慎哉 (Ozaki, Shinya)

名古屋市立大学・医学系研究科・研究員

研究者番号：70646455