

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591902

研究課題名（和文） 鼻粘膜を利用した末梢神経再生の研究

研究課題名（英文）

Peripheral Neural regeneration from olfactory mucosa

研究代表者

濱島 有喜 (HAMAJIMA YUKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：30343403

研究成果の概要（和文）：

胎児マウスの嗅裂には多くの組織幹細胞が存在しており、その幹細胞を培養し、顔面神経麻痺モデルマウスの顔面神経周囲に移植した。その結果、顔面神経麻痺モデルマウスにおいて、嗅粘膜由来の組織幹細胞を麻痺神経周囲に移植することにより、自然治癒したモデルマウスと比較し、顔面神経麻痺改善に要する期間が有意に短縮されることが示唆された。麻痺改善については、幹細胞移植マウスと自然治癒群では両群に有意差を認めなかった。神経の再生については、神経再生が活発であることを示す、BrdUの取り込みが多く認められた。

研究成果の概要（英文）：

Many tissue-driven stem cells existed in the Olfactory fissure of the fetus mouse, cultured that tissue-driven stem cell, transplanted around the facial nerve of the facial nervous paralysis model mouse. As a result, by comparison with the model mouse which heals naturally by transplanting the organizational tissue-driven stem cell of olfactory mucous membrane origin around the paralysis nerve in the facial nervous paralysis model mouse, it was suggested that the period when it requires for facial nervous paralysis improvement is shortened significantly. Concerning paralysis improvement, with the tissue-driven stem cell transplantation mouse and the natural healing group significant difference was not recognized in both groups. Concerning the playback of the nerve, the fact that nervous playback is active is shown, it could recognize the taking in BrdU mainly. Neural stem cells from olfactory mucosa may recover mouse facial nerve palsy better.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：鼻科学

1. 研究開始当初の背景

嗅覚障害は、日常診療において頻繁に遭遇する疾患であるが、治療に難渋する場合が多い。ステロイド剤の内服や点鼻治療が主体であるが、これらの薬物治療には限界があり、十分に満足できる治療法は現在のところ無いといっても過言ではない。そこで我々は、嗅覚障害の新たな治療法を開発していきたいと考えている。嗅覚は、人間にとって、唯一再生可能な中枢神経であるが、その再生のメカニズムは現在のところまだ明らかではない。中枢神経の機能回復においては、損傷部位に鼻粘膜を移植し、手足の運動機能回復を認めたとの報告がある¹⁾。これは鼻粘膜に何らかの神経栄養因子が潜んでいることを示唆するものであり、ここで我々は、鼻粘膜を利用した神経再生研究に着目した。また、我々はこれまでに、嗅粘膜から組織幹細胞を分離培養し、神経再生に利用する研究を進めており、嗅神経再生の研究に応用したいと考えている。

2. 研究の目的

我々はこれまでの研究で、鼻粘膜より採取した組織幹細胞を利用し、嗅覚機能再生を目指してきた。今後は、より詳細な機能解析を行うため、組織幹細胞から、嗅覚細胞への分化、嗅覚機能獲得について研究を行っていききたい。また、嗅粘膜由来の組織幹細胞を利用し、味覚障害や顔面神経麻痺などの末梢神経再生にも応用したい。

3. 研究の方法

組織幹細胞を嗅粘膜より抽出し、継代培養する。組織幹細胞を成長因子、ビタミン製剤、転写因子と共培養し、どのような過程で嗅細胞への分化するのか検討する。

また、神経障害モデルマウスを利用し、組織幹細胞を、障害神経周囲に散布させ、障害神経が再生していくか検討する。嗅覚障害モデ

ルマウス、顔面神経麻痺モデルマウスはすでに当教室で確立されており、そのモデルマウスを利用することを考えている。

4. 研究成果

妊娠マウスをケタミン、ザイラジンにて麻酔後、胎児を取りだし、断頭して脳組織を取り除き、嗅裂を含むように鼻粘膜を取り出した。抗生剤を含んだ生理食塩水にて組織を洗浄後、0.25%トリプシンにて組織を37℃にて15分間静置し、細胞を分離させ、骨などの不要組織をナイロンメッシュにて除去した。その後回収した細胞を、成長因子を加えた培養液で継代した。ディッシュに付着する細胞と浮遊する細胞を分離し、浮遊細胞を継代した。浮遊細胞は球状な neuro-sphere を形成し、12ヶ月以上継代することが出来た。これらの細胞からRNAを抽出し、RT-PCRにて神経系マーカーの発現をみると、Musashil、Nestin、などの神経幹細胞を示唆する遺伝子の発現を認め、組織由来神経幹細胞として神経再生の研究に使用した（論文投稿準備中）。顔面神経麻痺改善に対する、組織幹細胞の効果を確認するため、顔面神経麻痺モデルマウスに組織幹細胞を投与し、治療効果を確認した。顔面神経麻痺モデルマウスは、顔面神経を露出して、鉗子にて神経をクランプして作成した。クランプした神経周囲に継代している組織幹細胞を移植し、組織幹細胞を移植しない麻痺モデル群と顔面神経の回復時間を確認

した。その結果、組織幹細胞移植群が非移植群に比較し、有意に回復時間が早かった。現在論文投稿中である。

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1件）

- ① 濱島有喜, 中村善久, 村上信五: 下気道症状を伴う小児急性中耳炎におけるロイコトリエン拮抗薬の効果. Prog. Med30(3), 2010. 査読有

〔学会発表〕（計2件）

- ① 濱島有喜: 名古屋市立大学における唾液腺内視鏡を利用した唾石摘出術. 第25回日本口腔・咽頭科学会. 2012年9月13日. 熊本
- ② 濱島有喜, 伊地知圭, 村上信五: Reflux Symptom Index による咽喉頭酸逆流症の診断とプロトンポンプインヒビターによる治療効果 その2. 第23回日本喉頭科学会. 2011年4月21日. 北海道

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱島 有喜 (HAMAJIMA YUKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：30343403

(2) 研究分担者

飛田 秀樹 (HIDA HIDEKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：00305525