

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K20245

研究課題名(和文) 嗅神経細胞の再生医療

研究課題名(英文) Regenerative therapy of olfactory epithelium

研究代表者

福田 有里子(橋本)(Fukuda, Yuriko)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：80570499

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：神経栄養因子(FGF：fibroblast growth factor、IGF1：insulinlike growth factor-1)点鼻による嗅上皮再生促進効果を検討した。【方法】高齢ICRマウス(7か月齢)に抗甲状腺薬メチマゾールの腹腔内投与を行い、嗅上皮傷害モデルを作成した。3日目に点鼻し、18日目に嗅上皮を採取し、生食点鼻群、FGF点鼻群、IGF点鼻群で組織学的な比較を行った。【結果】FGF2点鼻群、IGF1点鼻群は、いずれもコントロール群と比較して、成熟嗅神経細胞を表すOMP(olfactory marker protein)陽性細胞が増加し、嗅上皮の厚みが増大した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経栄養因子FGF、IGF-1を高齢マウスの傷害嗅上皮へ経鼻的に投与することにより、基底細胞の増殖を促進し、未分化な嗅神経細胞から成熟した嗅神経細胞への分化を促進させる可能性が示唆された。徐放用ハイドロゲルの使用により、持続的な効果が確認された。FGF2およびIGF1は他領域の再生医療において既に臨床応用されている。傷害された嗅上皮の再生を促進するという形で、嗅覚障害においても同様に治療薬の有効な候補と考えられた。

研究成果の概要(英文)：we examined the effects of intranasal administration of fibroblast growth factor-2 and insulin-like growth factor-1 in gelatin hydrogel on the degenerated OE of aging mice induced by methimazole administration. These topical treatments led to increases in the number of olfactory marker protein-positive cells, which identified mature ORNs, resulting in the increased thickness of OE. These results indicate that both fibroblast growth factor-2 and insulin-like growth factor-1 promote the proliferation of basal cells and differentiation of immature ORNs into mature ORNs in the degenerated OE of aging mice.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：加齢 神経栄養因子 嗅上皮

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

哺乳類の嗅上皮においては、終生再生を繰り返し、嗅神経細胞のターンオーバーが絶えず起こることにより、神経再生が生涯持続する。しかしながら加齢あるいは種々の外因により、この再生能は低下する。現在のところ、実地臨床において、鼻副鼻腔疾患による嗅覚障害ではステロイドによる軽快が期待できるが、加齢をはじめ他の嗅覚障害に対しては病態が解明されておらず、有効な治療法も見つかっていない。

### 2. 研究の目的

嗅上皮再生過程における嗅神経細胞の分化、増殖、成熟には様々な転写因子や神経栄養因子が関与している。そこで今回我々は、神経栄養因子を局所投与(点鼻)することによる嗅上皮再生促進効果を検討した。

神経栄養因子としては以下の2つを候補として挙げた。

神経栄養因子 FGF (fibroblast growth factor) は他の神経系と同様、嗅上皮においてもその発生に重要な役割を果たしており、中でも FGF2 は成熟したげっ歯類の嗅上皮に発現しており、*in vitro* において幹細胞の増殖促進にかかわると言われている。IGF1 (insulin-like growth factor-1) は *in vitro* において前駆細胞から嗅上皮細胞への分化を促進し、成熟マウスにおいても嗅上皮の再生と維持に重要であることが報告されている。

また、これら神経栄養因子をより効果的に投与するため、局所投与においては徐放性に優れたゼラチンベースのハイドロゲルを用いた。

### 3. 研究の方法

#### < 嗅上皮傷害モデルマウスの作成 >

ICR マウス (7 か月齢) に抗甲状腺薬メチマゾールの腹腔内投与を行い、嗅上皮傷害モデルを作成した。

#### < 嗅上皮傷害マウスへの神経栄養因子経鼻投与実験 >

メチマゾール投与後 3 日目に、FGF2 または IGF1 を徐放用ハイドロゲルに含浸させ、ミダゾラム、塩酸メドミジン、ブトルファノールの腹腔内投与による麻酔下に経鼻投与した。コントロール群には生食を用いた。局所投与は1回のみで、片側(右側)鼻腔に行った。

メチマゾール投与後 18 日目に嗅上皮を採取し、嗅球を通る冠状断で鼻腔の薄切標本を作製した。免疫染色を行い、生食点鼻群、FGF2 点鼻群、IGF1 点鼻群における嗅上皮の厚さ、成熟嗅神経細胞数、幼若な嗅神経細胞数の比較を行った。なお、測定は個体ごとに鼻腔の同側嗅上皮の任意の3点で行った。One-way ANOVA の後、Tukey-Kramer の多重比較検定を行った。

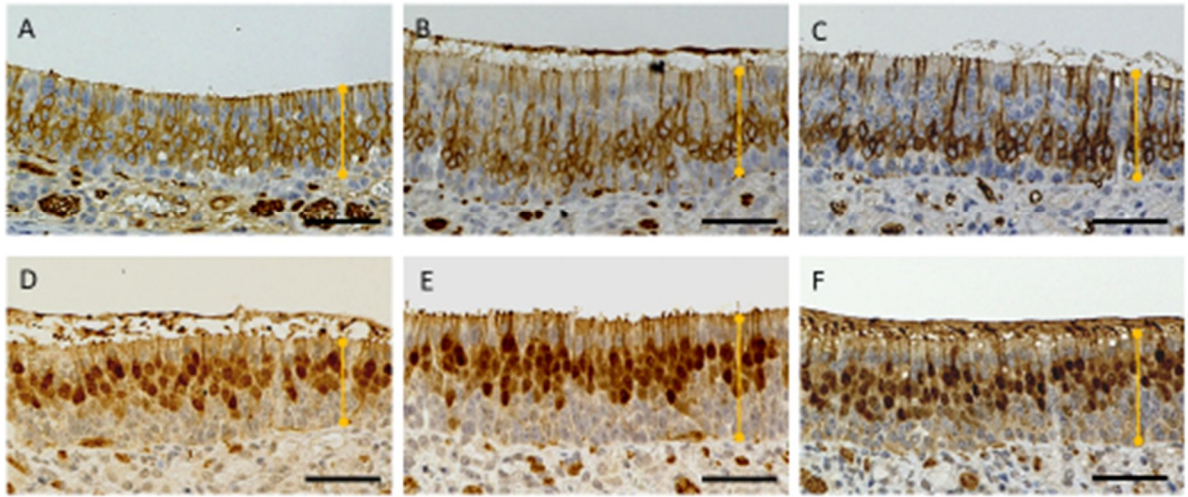
### 4. 研究成果

#### < 嗅上皮傷害マウスへの神経栄養因子経鼻投与実験 >

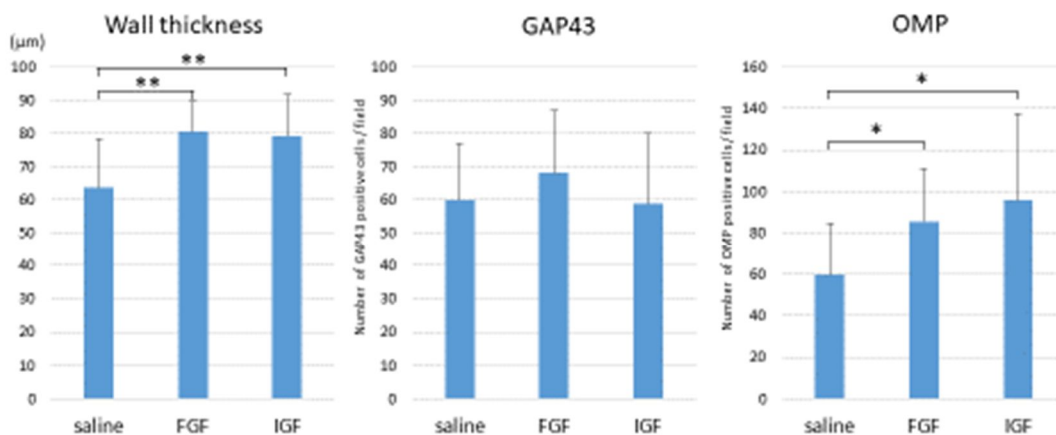
FGF2 点鼻群、IGF1 点鼻群は、いずれもコントロール群と比較して、成熟嗅神経細胞を表す OMP (olfactory marker protein) 陽性細胞が増加し、嗅上皮の厚みが増大した。幼若な嗅神経細胞を表す GAP43 (growth associated protein 43) 陽性細胞の数については有意差を認めなかった。

点鼻は片側鼻腔に行ったが、全ての群で両側鼻腔の成熟嗅神経細胞数、上皮の厚さに有意な差を認めなかった。FGF2 点鼻群、IGF1 点鼻群間では、いずれの項目においても有意差を認めなかった。

**Figure 1.** Immunostaining for GAP43 positive cells in the olfactory epithelium 18 days after the methimazole injection in saline (A), FGF-2 (B), or IGF-1 (C) administrated groups. Olfactory marker protein (OMP) positive cells in the olfactory epithelium 18 days after the methimazole injection in saline (D), FGF-2 (E), or IGF-1 (F) administrated groups. Yellow bars represent the thickness of olfactory epithelium from apical to base. Scale bar, 50mm.



**Figure 2.** Comparison of the wall thickness, number of cells positive for GAP43 and olfactory marker protein (OMP) in the olfactory epithelium 18 days after the methimazole injection among saline, FGF, and IGF administrated group. Number of cells are counted in fields of 360  $\mu$ m epithelium length. \*P<0.05 \*\*P<0.01



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Fukuda Yuriko, Katsunuma Sayaka, Uranagase Atsuhiko, Nota Jumpei, Nibu Ken-ichi	4. 巻 29
2. 論文標題 Effect of intranasal administration of neurotrophic factors on regeneration of chemically degenerated olfactory epithelium in aging mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 NeuroReport	6. 最初と最後の頁 1400 ~ 1404
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/WNR.0000000000001125	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福田 有里子
2. 発表標題 高齢マウスの変性嗅上皮に対する神経栄養因子点鼻の効果
3. 学会等名 日本鼻科学会
4. 発表年 2017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
---------------------------	-----------------------	----