

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791878

研究課題名(和文) 感冒後嗅覚障害の病態生理解明および予防治療法開発のための分子生物学的研究

研究課題名(英文) Molecular biological studies on the pathophysiology and prophylactic treatment of postviral olfactory disorder

研究代表者

金谷 佳織 (Kanaya, Kaori)

東京大学・医学部附属病院・臨床登録医

研究者番号：90456129

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：ウイルス性嗅覚障害の病態生理については不明な点が多く詳細は不明である。本研究では宿主免疫応答に伴う2次的な自己組織の傷害に焦点を当て解析した。ウイルス擬似成分であるPoly(I:C)をマウスに経鼻投与すると嗅上皮に好中球、マクロファージなどの炎症細胞浸潤が生じ、嗅上皮の変性を認めた。嗅上皮傷害は好中球浸潤の強い部位で著明であり、好中球減少モデルマウスで傷害が抑制されたこと、好中球エラスターゼ阻害薬の投与により傷害が抑制されたことから好中球が嗅上皮傷害に強く関与していることが示唆された。好中球による自己組織の傷害を抑制することでウイルス性嗅覚障害が予防される可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The pathogenesis of postviral olfactory disorder (PVOD) has not been clarified. In this study, we investigated the secondary damage of olfactory neuroepithelium caused by host immune responses. Intranasal administration of Poly(I:C), which is a synthetic analog of viral double-stranded RNA, induced the inflammatory cells infiltration and the olfactory neuroepithelial damage. The damage was significantly inhibited by a neutrophil elastase inhibitor and was suppressed in neutropenic model mice. These findings suggest that neutrophils are deeply involved in the olfactory neuroepithelial damage. Thus the inhibition of neutrophil-mediated tissue damage could be a prophylactic strategy for PVOD.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・鼻科学

キーワード：ウイルス性嗅覚障害 Toll-like receptor 3 Poly(I:C) 好中球

1. 研究開始当初の背景

上気道ウイルス感染後に発症する嗅覚障害である感冒後嗅覚障害は嗅覚障害の臨床統計において慢性鼻副鼻腔炎による嗅覚障害に次いで原因の第2位を占める重要疾患である。慢性鼻副鼻腔炎による嗅覚障害の多くが嗅裂の物理的な閉塞による呼吸性嗅覚障害であり、適切な薬物治療や手術療法で改善が期待できるのに対し、感冒後嗅覚障害は嗅神経組織自体の傷害であり、多くの患者で改善には数力月から2年近くを要する。また少なからぬ例が恒久的な嗅覚低下や異嗅症などの後遺症を残し、ガスや火災、腐敗臭の異臭の察知、また食事や酒の風味、香水、草花の香りの感知・賞味など健康で文化的な生活を送る機能が損なわれる。感冒後嗅覚障害は特に更年期以降の女性に多く発症するという疫学的特徴があるが、身体の活動性が低下した高齢者では嗅覚の生活における重要性が若年者と比べて相対的に増しているため、本疾患は患者のQOLを大きく低下させる。日本社会の急速な高齢化と相まって感冒後嗅覚障害の克服は嗅覚医学上の重要な課題の1つとなってきている。嗅粘膜は神経上皮であるとともに気道上皮でもあり、様々な外的傷害因子に絶えず暴露される中で機能を一定に保つために恒常的に神経細胞の脱落・再生を行うという全身の神経組織の中でも特異な性質を有している。しかしこのような高い再生能がありながら感冒後嗅覚障害で上記のような後遺症が残存する原因はほとんどわかっていない。感冒後嗅覚障害の発症のメカニズムについてはこれまで少数のヒト検体を用いた臨床研究や実験動物を用いた形態学的研究が散見されるのみであり、病態生理の分子メカニズムに踏み込んだ系統的な研究は行われてこなかった。

2. 研究の目的

本研究では、ウイルス感染モデルとして用いられる Poly(I:C) (合成2本鎖RNA) をマウスに経鼻投与し、TLR3を介した免疫応答とこれに引き続く嗅神経細胞変性の分子メカニズムを解明し、また傷害後の神経上皮再生にかかわるシグナル応答、及び嗅機能の回復過程を解析し、さらにこれらを人為的に制御する薬物療法の検討を行うことによって、感冒後嗅覚障害の病態生理の解明と臨床応用可能な予防治療法開発に貢献することを目標とする。

3. 研究の方法

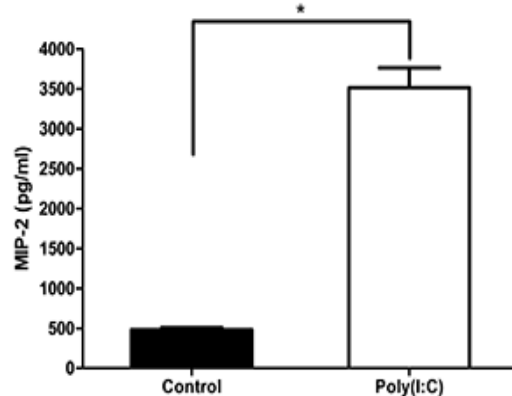
3ヶ月齢 ICR マウスに Poly(I:C) または生食を3日間点鼻投与し、初回点鼻後8時間、12時間、3日目、9日目、1ヶ月目に嗅粘膜組織を採取し、転写因子発現、サイトカイン、炎症細胞浸潤、嗅上皮の変性の経時変化を解析した。また嗅覚機能の変化を嗅覚行動実験を用いて解析した。

4. 研究成果

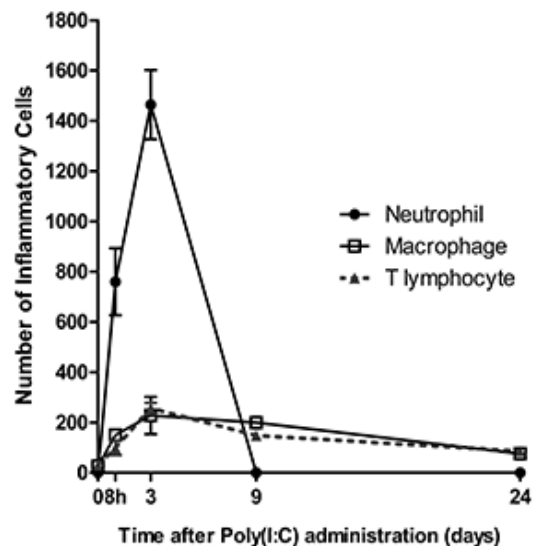
Poly(I:C) 点鼻後、嗅上皮において TLR3 signaling pathway が活性化し、下流のシグナルである phospho-IRF3、phospho-NF B の発現が亢進し、マウス好中球遊走因子 MIP-2 の上昇を認めた。初回点鼻後3日目には嗅上皮内に好中球、マクロファージ、リンパ球などの炎症浸潤を認めた。嗅上皮は変性し、初回点鼻後9日目には OMP 陽性成熟嗅神経細胞数は著明に減少した。嗅上皮傷害に伴い嗅覚機能が低下することを行動実験 (olfactory habituation dishabituation test) により確認した。その後約1ヶ月の経過で嗅上皮は再生した。

Cyclophosphamide を用いた好中球減少モデルマウスおよび好中球エラストラーゼ阻害薬 (Sivelestat) を用いた実験により嗅上皮傷害が抑制されたことから、好中球が嗅上皮傷害に関与している可能性が示唆された。

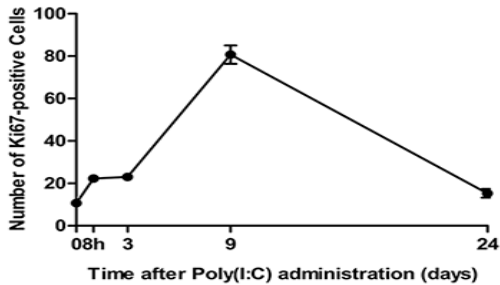
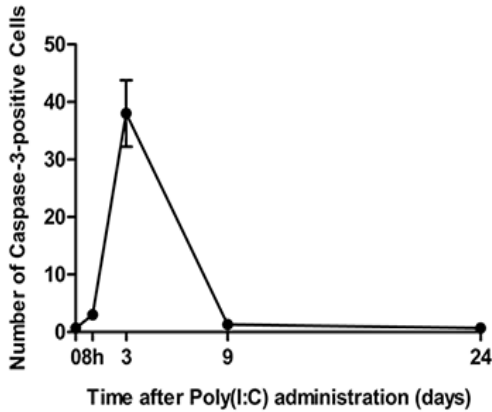
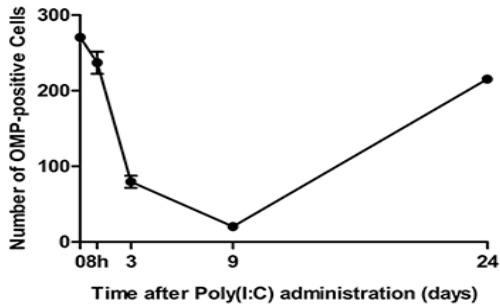
〔MIP-2 発現〕



〔炎症細胞浸潤数の経時変化〕

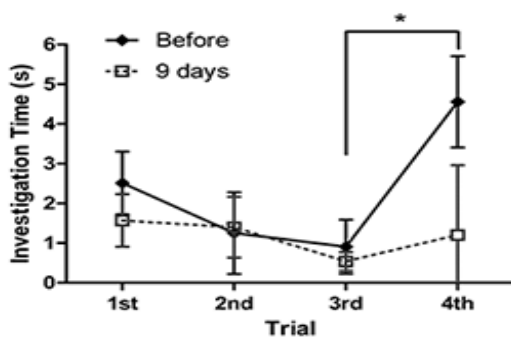


〔嗅上皮細胞動態の経時変化〕

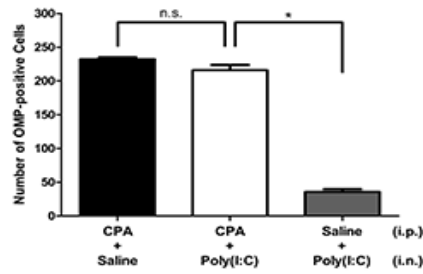


〔嗅覚行動実験〕

Olfactory habituation dishabituation test



〔好中球減少モデルマウス〕



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)

Kanaya K, Kondo K, Suzukawa K, Sakamoto T, Kikuta S, Okada K, Yamasoba T. Innate immune responses and neuroepithelial degeneration and regeneration in the mouse olfactory mucosa induced by intranasal administration of Poly(I:C). Cell and Tissue Research, 査読有, April 2014

〔学会発表〕(計1件)

1. 金谷佳織, 近藤健二, 鈴川佳吾, 菊田周, 山岨達也. 日本鼻科学会, 2011年12月, 岡山

2. Kanaya K, Kondo K, Suzukawa K, Sakamoto T, Kikuta S, Yamasoba T. Innate immune responses and neuroepithelial degeneration and regeneration in the mouse olfactory mucosa induced by intranasal administration of Poly(I:C). ERS- ISIAN June 17-21, 2012, Toulouse, France

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金谷 佳織 (KANAYA KAORI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：90456129

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし