

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462669

研究課題名(和文) 神経性嗅覚障害の病態解明と治療への応用-鍵を握るのはエストロゲンか成長因子か？-

研究課題名(英文) Elucidation of the pathology of neurogenic olfactory disorder and its application to therapy

研究代表者

三輪 高喜 (MIWA, Takaki)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：20229909

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：感冒後嗅覚障害は中高年の女性に多く発症するが、その理由は明らかにされていない。嗅細胞は常に変性と新生を繰り返す特異な神経細胞であり、中高年の女性は嗅神経の再生能力に何らかの特徴があるのではないかと思われ、嗅神経の再生と女性ホルモン、神経成長因子との関係を知るため本研究を立案した。その結果、卵巣を摘出した雌のマウスでは、同世代の無処置マウス、雄マウスと比べて、嗅神経障害後の再生が遅れることが判明した。一方、臨床研究として、感冒後嗅覚障害患者のエストロゲン値を測定したが、閉経後の患者が大部分を占めたため、嗅覚の回復とエストロゲン値との間に有意な関係は見いだせなかった。

研究成果の概要(英文)：Upper respiratory tract infections are a frequent cause of olfactory dysfunction. Typically, women are affected more frequently than men, and are middle aged or older at presentation. Although, the reason of them is uncertain, but they may be due to the reduced regenerative ability of the olfactory system with advancing age in female. To know the correlation between regenerative ability of olfactory neuron and estrogen, we used olfactory nerve destroyed mice using methimazole. Regeneration of olfactory neuron after degeneration was delayed in ovariectomized female mice than in sham-operated mice or male mice. It is suspected that decrease of estrogen influence regeneration of olfactory neuron.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：嗅神経 再生 エストロゲン 神経成長因子 卵巣摘出 女性

1. 研究開始当初の背景

嗅覚障害の主な原因は、慢性副鼻腔炎、アレルギー性鼻炎などの鼻副鼻腔疾患、急性上気道炎、顔面頭部外傷などが挙げられる。このうち、感冒後嗅覚障害は嗅神経の変性により発症し、中高年の女性に発生頻度が高いことが知られているが、その理由は明らかにされていない。

嗅神経細胞が再生することは知られているが、われわれのこれまでの研究において、嗅神経細胞の再生に神経成長因子 (NGF) が関与していることが判明した。また、漢方薬の当帰芍薬散はエストロゲン作用を有することや中枢においてNGFの活性を亢進することもこれまでの研究で明らかにされている。

感冒後嗅覚障害が中高年の女性に多い理由としてエストロゲンの変化にあるのではないかと、漢方薬の当帰芍薬散の効果、エストロゲンあるいはNGFに対する作用にあるのではないかと仮説に基づいて本研究を行うこととなった。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下の通りである。

- (1) 感冒後嗅覚障害患者の臨床的特徴を捉え、当帰芍薬散による治療効果を検討する。
- (2) エストロゲンの変化が嗅覚系ならびにその機能に及ぼす影響を観察する。
- (3) エストロゲンの変化が嗅覚障害後の再生に及ぼす影響を観察する。
- (4) 漢方薬の当帰芍薬散が嗅覚障害後の再生に及ぼす影響を観察する。

3. 研究の方法

(1) 感冒後嗅覚障害の臨床的特徴と当帰芍薬散の治療効果に関する研究

当科嗅覚外来を受診した嗅覚障害患者について、原因別頻度、年齢など臨床的特徴を調査するとともに、感冒後嗅覚障害に対して当帰芍薬散で治療を行った患者の治療成績を後ろ見的に観察した。

また、感冒後嗅覚障害で当帰芍薬散を投与した女性患者に対して同意を得た後、治療前後での血中エストラジオールの測定を行った。

(2) マウスを用いる研究

エストロゲンによる嗅覚系への影響

エストロゲンが嗅神経細胞の再生に及ぼす影響を観察するため、卵巣摘出マウスを用いた。まず、卵巣摘出により嗅神経への影響が生じないか、組織化学的に観察した。次いで、メチマゾールを腹腔内投与し嗅神経の変性を生じさせた後、再生の過程を成熟嗅細胞のマーカーである olfactory marker protein (OMP) ならびに嗅神経幹細胞のマーカーである Ki-67 を用いて観察した。

当帰芍薬散が再生に及ぼす影響

成熟雌マウスを用いて、メチマゾール投与により嗅神経細胞の変性を生じさせた後、当

帰芍薬散を投与したマウスと非投与マウスにおける再生過程を研究と同様の方法で、免疫組織化学的に観察した。

4. 研究成果

(1) 感冒後嗅覚障害の臨床的特徴と当帰芍薬散の治療効果に関する研究

2009年6月から2016年12月までの間に当科嗅覚外来を受診した患者は、検査目的の受診も含めて1,559例であり、原因として最も多かったのは慢性副鼻腔炎で45%を占めた。次いで多かったのが感冒後嗅覚障害の18%であり、外傷性嗅覚障害、アレルギー性鼻炎がそれぞれ5%であった。原因不明の嗅覚障害も19%と多く認められた。

感冒後嗅覚障害では女性が占める割合が73%と他の原因よりも有意に女性の占める割合が高かった。感冒後嗅覚障害患者は、年代別では60歳代に最も多く、患者の平均年齢は54.5歳であり、従来の報告とほぼ一致していた。

感冒後嗅覚障害に対して当帰芍薬散による治療を行い、初回受診時の嗅覚障害が中等度以上であり、治療前後に基準嗅力検査による効果判定を行った症例は124例であった。それらの症例に対して、日本鼻科学会嗅覚検査検討委員会で定めた治療効果判定による効果判定を行ったところ、治療開始後1~3か月での治癒率は16%、軽快率は23%であり、両者を合計した改善率は39%であった。欧米からの過去の報告による自然改善率は3か月で10%未満とされており、効果判定基準は異なるものの、無治療で自然経過を見る場合と比べて高い効果が得られるものと思われた。さらにカプランマイヤー法を用いて治癒率ならびに改善率を測定した結果、治癒率は3か月で13.7%、12か月で52.4%、18か月で68.9%であり、改善率はそれぞれ34.3%、79.7%、86.9%であった。これらの結果から、本疾患が長期間を要するものの、改善率は低いことが証明された。また、改善率に影響を及ぼす因子を検定したところ、12か月の時点での改善率において、性別、年齢(65歳未満と以上)では有意な差はなく、罹病期間(12か月未満と以上)、障害程度(脱失と非脱失)で有意差を認めた。しかし、改善率が劣る罹病期間12か月以上症例、脱失症例でも治療12か月での改善率はそれぞれ59.3%、66.2%であり、決してこれらの症例でも治らないということはないことが明らかとなった。

当帰芍薬散を投与した女性患者における、血中エストラジオールへの影響を測定したが、閉経後の患者では当帰芍薬散の投与を行ってもエストラジオールには変化が起こらず、閉経前の患者においては、月経周期を来院日において一定とすることが困難であり、有意な結果は得られなかった。

(2) マウスを用いる研究

エストロゲンによる嗅覚系への影響

エストロゲンが嗅神経細胞の再生に及ぼす影響を観察するため、卵巣摘出マウスを用いた。8週齢の Balb/C マウスを用い、卵巣摘出雌、卵巣非摘出雌ならびに雄マウスを用いた。メチマゾール 75mg/kg を腹腔内投与し、投与後 2 週、4 週、6 週の時点での嗅粘膜を採取し、OMP 抗体、Ki-67 抗体を用いて免疫組織化学的に観察した。いずれの群においても、メチマゾール傷害後、週を追うとともに嗅上皮は再生したが、投与 2 週の時点で OMP 陽性細胞、Ki-67 陽性細胞ともに卵巣摘出マウスでは他の群と比較して有意に低値となった。

当归芍薬散が嗅神経の再生に及ぼす影響

成熟雌 Balb/C マウスを用い、メチマゾール投与後の嗅上皮の再生を当归芍薬散投与群と非投与群とで比較した。その結果、メチマゾール投与後、2 週、4 週の時点で、当归芍薬散投与群では非投与群と比較して OMP 陽性細胞率は有意に高く、嗅上皮の厚さも非投与群と比較して有意に厚かった。

現在、いずれの研究においても、嗅覚中枢である嗅球および嗅上皮における NGF、脳由来神経成長因子 (BDNF)、NT3 の変化を ELISA 法を用いて観察中である。

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 15 件)

1. Hummel T, Miwa T 他 37 名 22 番目、Position paper on olfactory function, *Rhinology*、査読有、2017、Epub PMID:28623665
2. Shiga H, Miwa T 他 6 名 8 番目、Prognostic value of olfactory nerve damage measured with thallium-based olfactory imaging in patients with idiopathic olfactory dysfunction. *Sci Rep*、査読有、15 巻、2017、Epub PMID:28620194
3. 三輪高喜、高年齢女性の嗅覚障害、耳鼻咽喉科・頭頸部外科、査読無、89 巻、2017、250-255 DOI:10.11477/mf.1411201198
4. 三輪高喜、嗅細胞の再生と神経成長因子、*JOHNS*、査読無、33 巻、2017、153-156 DOI:なし
5. 志賀英明、三輪高喜、嗅覚障害に対する漢方治療、*JOHNS*、査読無、33 巻、2017、231-233 DOI:なし
6. 三輪高喜、中村久子、嗅覚障害診療とメディカルスタッフ、*JOHNS*、査読無、32 巻、2016、471-473 DOI:なし
7. 三輪高喜、嗅覚障害に対する漢方薬の効果、*漢方医学*、査読無、39 巻、2015、222-225 DOI:なし

8. 三輪高喜、嗅覚障害、*医学と薬学*、査読無、72 巻、2015、1973-1978 DOI:なし
9. 三輪高喜、耳鼻咽喉科漢方処方ベストマッチ 嗅覚障害、*ENTONI*、査読無、185 巻、2015、52-58 DOI:なし
10. 三輪高喜、高齢者の嗅覚障害、*医学のあゆみ*、査読無、253 巻、2015、509-513 DOI:なし
11. Shiga H, Miwa T 他 5 名 7 番目、Combinations of two odorants of smell identification test for screening of olfactory impairment, *Auris Nasus Larynx*、査読有、41 巻、2014、523-527 PMID: 25193286
12. Shiga H, Miwa T 他 7 名 9 番目、Reduced nasal transport of insulin-like growth factor-1 to the mouse cerebrum with olfactory bulb resection, *Chem Senses*、査読有、39 巻、2014、595-599 PMID: 25056729
13. 三輪高喜、嗅覚障害の臨床像と疫学、*日本医師会雑誌*、査読無、142 巻、2014、2623-2626 DOI:なし
14. 三輪高喜、神経再生に有効な薬剤、*JOHNS*、査読無、30 巻、2014、1497-1500 DOI:なし
15. 三輪高喜、嗅覚と遺伝子、*JOHNS*、査読無、30 巻、2014、709-713 DOI:なし

[学会発表](計 17 件)

1. Miwa T、Treatment of post-infectious olfactory dysfunction、International Congress of ORL-HNS、2017.4.21、ソウル(韓国)
2. 能田拓也、志賀英明、三輪高喜、他 3 名 5 番目、当归芍薬散の嗅神経再生効果の検討、第 35 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2017.4.13、旭川グランドホテル(北海道・旭川市)
3. 山田健太郎、志賀英明、三輪高喜、他 2 名 4 番目、マウス嗅上皮傷害後の再生における性差に関する研究、第 35 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2017.4.13、旭川グランドホテル(北海道・旭川市)
4. Miwa T、Recent advance of diagnosis and treatment of olfactory disorders、The 101st Annual Meeting of Taiwan Otolaryngological Society、2016.11.03、Taoyuan(台湾)
5. 志賀英明、三輪高喜 他 7 名 9 番目、嗅覚障害と漢方治療、第 32 回日本耳鼻咽喉科漢方研究会、2016.10.22、The Grand Hall(港区・東京都)
6. 三輪高喜、嗅覚障害診療における漢方治療の役割、第 15 回山形大学漢方実践講座、2016.9.14、山形大学医学部(山形市・山形県)
7. T. Miwa、Topical Therapy、26th Congress of the European Rhinologic Society、

- 2016.7.3、ストックホルム(スウェーデン)
8. M Kumai, T Miwa, Managing of Olfactory Loss, 26th Congress of the European Rhinologic Society, 2016.7.3、ストックホルム(スウェーデン)
 9. Miwa T, Olfactory impairment in elderly, 13rd Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 2015.12.3、一ツ橋講堂(千代田区・東京都)
 10. 三輪高喜、鼻科領域の検査と処置の新展開、第 54 回日本鼻科学会、2015.10.1、広島国際会議場(広島市・広島県)
 11. 三輪高喜、診療ガイドライン作成における漢方薬の取り扱いについて 嗅覚障害診療ガイドライン、第 66 回日本東洋医学会総会、2015.6.13、富山国際会議場(富山市・富山県)
 12. 三輪高喜、シンポジウム 2 感覚器の老化と抗加齢医学 嗅覚、第 116 回日本耳鼻咽喉科学会総会学術講演会、2015.5.20、東京国際フォーラム(千代田区・東京都)
 13. Miwa T, Treatment of patients with olfactory dysfunction due to chronic rhinosinusitis, World Congress of Rhinology, 2015.4.30、サンパウロ(ブラジル)
 14. Miwa T, Change of olfactory function in the elderly and anti-aging, 17th Asian Research Symposium in Rhinology, 2015.4.9、北京(中国)
 15. Miwa T, Yamamoto J, Shiga H 他, Changes in smell and taste function in elderly, Clinical Chemosensation 2014、2014.11.20、ドレスデン(ドイツ)
 16. Miwa T, Yamamoto J, Shiga H 他, Changes in smell and taste function in elderly, 24th European Chemoreception Organization Meeting, 2014.9.10、ディジョン(フランス)
 17. 三輪高喜、嗅覚の加齢変化とアンチエイジング、第 14 回日本抗加齢医学会、2014.6.6、大阪国際会議場(大阪市・大阪府)

〔図書〕(計 5 件)

1. 三輪高喜他、メディカル・サイエンス・インターナショナル、ハリソン内科学第 5 版、2017、2837(216-222)
2. 三輪高喜、中山書店、ENT 臨床フロンティア Next 耳鼻咽喉科標準治療のためのガイドライン活用術、2017、304(155-158)
3. 三輪高喜、中山書店、ENT 臨床フロンティア Next 耳鼻咽喉科イノベーション最新の治療・診断・疾患概念、2016、276(179-181)
4. 三輪高喜、日経メディカル開発、ガイドライン外来診療 2016、2016、605

(562-563)

5. 三輪高喜、メディカルビュー社、診療ガイドライン Up-to-Date、2016、942(790-793)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kanazawa-med.ac.jp/~ent/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三輪 高喜 (MIWA, Takaki)
金沢医科大学・医学部・教授
研究者番号：20229909

(2) 研究分担者

志賀 英明 (SHIGA, Hideaki)
金沢医科大学・医学部・准教授
研究者番号：20460371

山本 純平 (YAMAMOTO, Junpei)
金沢医科大学・医学部・助教
研究者番号：80436823

(4) 研究協力者

能田 拓也 (NODA, Takuya)
金沢医科大学・医学部・助教

研究者番号：00722662

山田 健太郎 (YAMADA, Kentaro)
金沢医科大学・医学部・助教
研究者番号：60722642

張田 雅之 (HARITA, Masayuki)
金沢医科大学・医学部・助教
研究者番号：40769105