

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462580

研究課題名(和文) 嗅覚障害に対する新規他覚的検査法確立と再生医療開発に関する研究

研究課題名(英文) New strategies for examination and regenerative treatment of olfactory dysfunction

研究代表者

小林 正佳 (Kobayashi, Masayoshi)

三重大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：80343218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：嗅覚受容器の存在する鼻腔環境に応じたDrug delivery system (DDS) 開発を行い、ここから徐放する嗅細胞再生促進因子の有効性を組織学的、機能的に評価すると同時に、光コヒーレンストモグラフィ(optical coherence tomography: OCT)を用いて、非侵襲的かつ他覚的な組織レベルでの至適な画像診断方法を明らかにし、将来の臨床的他覚的嗅覚検査法の開発の基礎を確立するための基礎研究を施行した。

研究成果の概要(英文)：Optical coherence tomography (OCT) is an imaging tool using the coherence of infrared light. The present study aimed to examine the feasibility of OCT for diagnosis of degeneration in the olfactory epithelium using a mouse model. Changes in the thickness of olfactory epithelia following methimazole treatment, which causes loss of olfactory sensory cells, were estimated by OCT. OCT images demonstrated the difference in thickness between the olfactory and respiratory epithelium similarly to that in hematoxylin and eosin (HE) staining. HE staining revealed a decrease in thickness of olfactory epithelia 3 days after systemic application of methimazole and recovery in thickness overtime, which was also detectable in OCT images. Present findings demonstrated the capability of OCT for detecting degeneration and regeneration of mouse olfactory epithelia, suggesting future application of OCT for visualization of degeneration and regeneration in olfactory epithelia in humans.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：嗅覚

1. 研究開始当初の背景

現代社会の高齢化による嗅覚障害患者の増加、またアルツハイマー病、パーキンソン病など中枢神経変性疾患の早期発見のための嗅覚障害診断の有用性などから、近年嗅覚障害に対する社会的、医療的関心が増加している。

嗅覚障害の診断における問題点の一つとして、嗅覚受容器の存在する嗅細胞の顕微的な障害の他覚的、客観的診断法が確立されていないことが挙げられる。すなわち、慢性副鼻腔炎におけるポリープが原因の嗅覚障害例はマクロ的に病態診断が容易である一方、嗅粘膜性障害である感冒後嗅覚障害例や薬物性嗅覚障害例における嗅粘膜は、通常マクロ的には正常所見と同じようにみえるため、現病歴を参考にのみで、他覚的、客観的所見に基づいた診断ができていないのが現状である。

これらの例に対して、嗅粘膜の生検の施行報告もあるが、嗅粘膜の存在する嗅裂部は構造的に狭く複雑で、頭蓋底の篩板とも接するため、頭蓋底損傷のリスクもあり、実際の外来診療における実用は困難である。よって、非侵襲的かつ他覚的に組織レベルでの障害が評価できる嗅覚障害診断方法の新規開発が望まれる。

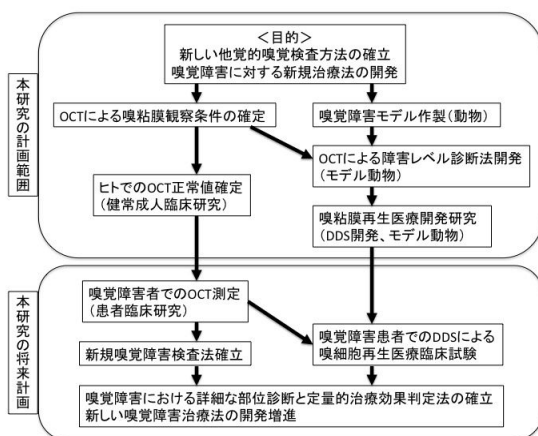
2. 研究の目的

本研究では、第一に新たな嗅覚障害の検査方法として、光コヒーレンストモグラフィ (optical coherence tomography: OCT) を用いた非侵襲的かつ他覚的な嗅粘膜の画像診断方法を確立する。同時に、嗅覚障害モデルを用いて、嗅粘膜の再生医療開発も行い、組織学的な再生をどこまでOCTで評価できるのかを明らかにする。嗅粘膜の再生医療開発

においては、インスリン様細胞増殖因子 (IGF)、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) を Drug delivery system (DDS) を用いて、局所で徐放する。嗅粘膜の存在する鼻腔という環境に応じたDDS開発を行い、障害モデルでの有効性を組織学的、機能的に評価すると同時に、OCTによる評価を行う。研究初年度には、健常動物を用いたOCTによる嗅粘膜評価の条件の至適化を行い、この結果に基づき、障害モデルでの、OCTによる障害レベルの評価方法基準化に関する研究を実施する。これらの応用として、正常ヒト嗅粘膜におけるOCTでの評価方法も策定する。今回の研究により、最も有効性が期待できる方法を確定し、将来の嗅覚障害診断における臨床検査としての応用に向けた基礎を確立する。

本研究の特色は、嗅覚の簡便かつ他覚的な検査方法を確立し、嗅細胞レベルでの嗅覚障害を確定できる検査プロトコルを開発を目的としていることである。本研究では、すでに網膜疾患の診断など眼科領域で広く用いられている光コヒーレンストモグラフィ (optical coherence tomography: OCT) を嗅粘膜の観察に応用し、末梢感覚器障害診断の特異性を高め、治療の標的を明確にし、詳細な障害レベルの診断を可能とする。一方、嗅細胞は再生能力を有することが知られているが、潜在的な再生能力を高める再生医療の開発が十分に行われているとは言い難い。本研究では、OCTによる嗅粘膜障害の評価を用い、臨床応用に直結する薬物徐放システム (Drug delivery system: DDS) を応用した嗅覚に対する再生医療開発を行う。本研究は、研究代表者が長年積み重ねてきた嗅覚障害に関する基礎、臨床にわたる研究成果を、分担研究者が有するOCTを用いた画像診断技術、再生医療開発実績と統合することにより、早期臨床応用を可能とし、嗅覚障害における全く新しい診断、治療パラダイムを構築する画期的な研究課題といえる。特に、OCTを嗅粘

膜の観察に応用する研究の報告は過去になく、生体での嗅細胞の障害の程度を評価することにより、詳細な再生誘導の効果判定も可能となることから、再生医療臨床応用の観点からも期待できるものといえる。研究初年度にOCTを用いた嗅粘膜の画像診断における条件の最適化を健常動物実験で行い、OCTによる評価方法の基盤を形成すると同時に、障害モデル作製、DDS開発、治療候補薬選定に関する基礎的研究開発を行う。平成27年度以降に、再生モデル動物での再生過程のOCTによる評価を行い、最終的には、ヒト嗅粘膜を対象とした臨床的実用化を最終目的とするOCTによる他覚的かつ非侵襲的な嗅細胞障害診断法の基礎確立を目標とする。



3. 研究の方法

マウスに対してメチマゾールを投与し、投与から3、7、14、42日経過後に全身麻酔下で鼻粘膜を露出させ、光コヒーレンストモグラフィー（OCT）装置（OCS-1300ss、Thorlab）で嗅上皮の可視化を図った。その後、屠殺、パラフィン切片を作成、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施行した。

OCT画像では、嗅上皮および嗅上皮において、粘膜表面から粘膜固有層の血管の表層側で作成した包絡線までの距離を測定した。ま

た、HE染色を行った切片は顕微鏡下で写真撮影し、嗅上皮と呼吸上皮の厚さを測定した。

4. 研究成果

まず、HE染色の組織切片で測定した呼吸上皮の厚さは、嗅上皮を薬物性に脱落させるメチマゾールの投与により、有意な経時的変化を示さなかったが、嗅上皮の厚さは、メチマゾール投与後3日目に薄くなる経時的変化を示した。その後、7日、14日目には徐々に厚みが回復し、42日後には元の厚さにまで回復したのを確認した。

次に、メチマゾール後の呼吸上皮と嗅上皮の厚さの変化をOCTで測定した結果、HE染色で測定した結果と同様の経時的変化を確認することができた。すなわち、メチマゾール投与後の嗅上皮の厚みの減少とその後の経時的な回復の経過をOCTで測定することができた。

以上から、OCT装置で嗅上皮の厚さの変化を非侵襲的に測定することの基礎が確認できた

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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 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

小林 正佳 (KOBAYASHI, Masayoshi)

三重大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：80343218

(2) 研究分担者

中川 隆之 (NAKAGAWA, Takayuki)

京都大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：50335270

坂本 達則 (SAKAMOTO, Tatsunori)

公益財団法人田附興風会・医科学研究所

第5研究部・研究員

研究者番号：60425626

(3) 連携研究者

田畑 泰彦 (TABATA, Yasuhiko)

京都大学・再生医科学研究所・教授

研究者番号：50211371

(4) 研究協力者

()