

審査の結果の要旨

氏名 上羽 瑠美

本研究では、嗅覚障害の因子である喫煙と加齢変化が嗅神経上皮の恒常性維持に及ぼす影響を明らかにするため、それぞれの疾患モデルとしてタバコ煙溶液による喫煙モデルマウスと加齢マウスを用いて、嗅神経細胞系の組織学的な検証と遺伝子発現解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. タバコ煙溶液 (Cigarette smoke solution: CSS) の 20 回投与 (24 日間) による喫煙モデルマウスを用いて、嗅神経上皮への組織学的影響を経時的に検証した。成熟嗅神経細胞 (olfactory receptor neurons: ORNs) は CSS 投与により有意に減少し、投与終了後 7 日目に最も顕著に低下したが、投与終了後 14 日目以降に次第に回復した。
2. CSS 投与が嗅覚機能に影響を与えるかどうかを嗅覚行動実験 (Olfactory habituation/dishabituation test) で検証したところ、嗅覚機能は成熟 ORNs 数の減少と同様の動向を示し、成熟 ORNs が障害されることが CSS 誘導性の嗅覚障害機序の背景にあると考えられた。
3. CSS による嗅神経前駆細胞数、細胞分裂、細胞死への影響を組織学的に検証した結果、嗅神経前駆細胞と分裂細胞は CSS 投与終了後に有意に低下しその後増加し、アポトーシス細胞は CSS 投与により増加する傾向を示した。CSS 投与による嗅神経前駆細胞数の減少が、CSS 誘導性の成熟 ORNs 数減少と嗅覚機能低下に影響していると考えられた。
4. 神経幹細胞や前駆細胞の増殖分化に影響する炎症性サイトカインを解析したところ、CSS 投与群の鼻粘膜中の IL-1 β と IL-6 の mRNA 発現が、投与終了後 1 日目と 7 日目に有意に増加していたことから、タバコ煙によって炎症反応や免疫応答が誘導されることにより、ORNs や嗅神経前駆細胞が障害される可能性が示唆された。
5. 加齢マウスの嗅神経上皮において、成熟 ORNs が若齢群より有意に少なく、分裂細胞や未熟 ORNs も減少していたが、嗅神経前駆細胞数は若齢群と有意差を認めなかった。加齢群の嗅神経上皮は若齢群と同程度の多能性幹細胞能を有するものの、加齢により嗅神経前駆細胞や未熟 ORNs の分裂と分化が低下することで成熟 ORNs が減少し嗅覚障害に繋がる可能性が示唆された。
6. マウス鼻粘膜の mRNA のマイクロアレイ解析において、加齢群と若齢群で比較し有意に発現上昇した遺伝子に炎症性サイトカインの一つで多能性前駆細胞の幹細胞機能を抑制することが報告されている Il6 を認め、発現低下した遺伝子には、Coll1a1

を始めとするコラーゲンファミリー遺伝子と **Igf1** を認めた。

7. **Gene ontology** に基づく機能解析において、加齢に伴い上昇した遺伝子グループに濃縮された生物学的機能は、嗅覚伝達とステロイドホルモンの生合成であった。一方、低下した生物学的機能として、成長因子への反応や軸索損傷後の反応に関わる遺伝子群、細胞分裂や生存および神経新生を調節する伝達経路関連遺伝子群、組織構築に関わる遺伝子群の発現低下が明らかになった。
8. リアルタイム **RT-PCR** による神経栄養因子や成長因子および炎症性サイトカインの **mRNA** 発現に関する若齢群と加齢群での定量比較において、**Igf1** の発現量が加齢群で有意に低下し、**Il6** の発現量が増加していたことから、加齢に伴う高 **IL-6**、低 **IGF-1** 環境による神経新生および増殖・分化の抑制が分子生物学的背景にあることが示唆された。

以上、本論文は、喫煙モデルマウスにおいて、炎症反応の上昇と嗅神経前駆細胞の減少によって成熟嗅神経細胞数が減少し、嗅覚機能障害が生じることを明らかにした。さらに、加齢マウスにおいて嗅神経前駆細胞の低下を伴わない成熟嗅神経細胞の減少を認め、加齢に伴う高 **IL-6**、低 **IGF-1** 環境による神経新生および増殖・分化の抑制が分子生物学的背景にある可能性を示した。本研究は、喫煙性嗅覚障害と加齢性嗅覚障害の病態解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。