

論文の内容の要旨

論文題目 後鼻神経切断術が鼻粘膜の生理機能およびアレルギー性鼻炎の病態に及ぼす影響の解析

氏名 西 脇 大 宣

アレルギー性鼻炎は、鼻粘膜のⅠ型アレルギー疾患で、くしゃみ、鼻漏、鼻閉を3主徴とする。アレルギー性鼻炎の治療法は抗ヒスタミン薬、ステロイド点鼻を中心とした段階的な薬物治療が中心であるが、薬物治療を受けた患者の満足度は必ずしも高いとは限らず、様々な薬物療法にも抵抗性でコントロールが不十分な患者にしばしば遭遇する。薬物治療で症状のコントロールができない患者には手術療法も考慮され、手術療法にはレーザー治療や、鼻腔整復手術など様々なものがある。その手術治療の一つとして、特に難治性のアレルギー性鼻炎に対しては、後鼻神経切断術が行われており、本邦では広く普及している。

後鼻神経は、翼口蓋神経節から蝶口蓋孔を通り鼻腔内へ分布する鼻粘膜呼吸上皮の支配神経の一つである。後鼻神経切断術は、鼻腔内へ分布する後鼻神経を内視鏡下に鼻腔入口部である蝶口蓋孔の基部で切断し、鼻炎症状を選択的に抑える方法である。後鼻神経切断術は、理論的には後鼻神経に含まれる副交感神経線維および知覚神経線維が切断されることで腺の分泌や反射を抑制し、鼻症状が軽快すると考えられており、鼻アレルギー症状のうち特に鼻汁抑制に効果があることが知られている。しかしヒトにおける研究の限界や、モデル動物がいないことからその実際の作用機序や、分子メカニズム、神経切断後の病態の詳細については十分な基礎研究が行われておらず不明な点も多い。本研究では、後鼻神経切断術モデルラットを作成し、鼻粘膜の生理機能及びアレルギー性鼻炎の病態に及ぼす影響について検討をした。さらに後鼻神経切断後の鼻粘膜の長期の観察を行い、支配神経の切断が鼻粘膜へ及ぼす長期的な影響についても検討をした。これらの課題に取り組むことで鼻粘膜における神経制御を明らかにするとともに、アレルギー性鼻炎における神経のはたす役割について明らかにすることを目的とした。そして後鼻神経切断術の基礎的なエビデンスの構築と、鼻炎の病態の更なる解明および治療法の進歩に寄与することを目的とした。

ラットの眼窩上縁より経眼窩的に翼口蓋窩へとアプローチをし、翼口蓋神経節からの後鼻神経を蝶口蓋孔への入口部で切断をし、後鼻神経切断術のモデル動物を作成した。最初に後鼻神経切断術が短期的に正常な鼻腔形態および鼻腔生理に及ぼす影響について検討をした。切断後2週間の後鼻神経切断術モデルでは、後鼻神経切断側と非切断側の鼻粘膜では鼻粘膜呼吸上皮の形態に大きな差は認めなかった。免疫染色では鼻粘膜呼吸上皮の大部分において神経線維マーカーとして用いたProtein Gene Product 9.5及び、交感、副交感、知覚神経の指標として用いた神経ペプチド（交感神経：Neuropeptide Y、副交感神経：Vasoactive intestinal peptide、知覚神経：Substance P、Calcitonin Gene-Related Peptide）の染色の発現低下を認めた。一方で鼻腔前方および嗅上皮では神経線維および神

経ペプチドの発現は保たれていた。この検討からはラットの後鼻神経は鼻腔呼吸上皮の大部分を支配していること、後鼻神経切断術は鼻粘膜呼吸上皮の脱神経を引き起こし、この神経には交感神経、副交感神経、知覚神経が含まれることが示唆された。

次に後鼻神経切断術が鼻汁分泌におよぼす影響について検討をした。後鼻神経切断後のラットにおいて、後鼻神経切断側では鼻入口部に痂皮の付着をみとめた。鼻汁量を測定すると切断側では有意に減少していた。組織学的には切断側では一部の外側の腺は萎縮していたが、鼻中隔粘膜の呼吸上皮杯細胞や鼻腺では粘液が過剰に貯蔵された部分も見られた。免疫染色では後鼻神経切断側においてアセチルコリントランスフェラーゼは消失する一方で、ムスカリネ受容体M3は切断側、非切断側間で差を認めなかった。鼻汁減量の機序を調べるためにおこなったコリン作動薬を使った検討では、コリン作動薬投与後は、切断側と非切断側でともに鼻汁量は増加し、その差は認められなかった。一方でコリンエステラーゼ分解阻害薬投与後は、切断側では非切断側に比べ鼻汁の増加量が少なかった。これらのことから、後鼻神経切断術に伴う鼻汁量の減少は、神経切断側鼻粘膜におけるムスカリン受容体の発現や腺分泌機能の異常によるものではなく、アセチルコリンの合成不全によることが示唆された。

後鼻神経切断術が鼻粘膜におけるアレルギー反応を抑制するという仮説を検討するために、アレルギー性鼻炎モデルに対して、両側の後鼻神経切断術を行い、その病態への影響を検討した。ラットに Ovalbumin (OVA) をアジュバントと共に腹腔内投与後、点鼻をすることによりアレルギー感作モデルを作成した。アレルギー性鼻炎モデルラット (OVA 感作単独群) では、鼻粘膜呼吸上皮の肥厚性変化および鼻粘膜への好酸球および肥満細胞の粘膜への浸潤が認められ、同時に鼻掻きくしゃみの行動実験によるアレルギー症状の亢進をみとめた。このアレルギーモデルに対する後鼻神経切断術の効果の検討では、OVA 感作単独群では神経線維マーカーおよび神経ペプチドの過発現が認められていた一方で、感作モデルに後鼻神経切断術を行った群 (OVA 感作+後鼻神経切断術群) では、これらの神経線維マーカーおよび神経ペプチドは消失しており、アレルギー感作モデルに対する後鼻神経切断術でも鼻粘膜の脱神経がおきていることが確認された。感作によって引き起こされた鼻粘膜肥厚所見及び好酸球、肥満細胞の上皮および粘膜下層へ浸潤は、OVA 感作+後鼻神経切断群でも同様に認められた。これらのことは粘膜の肥厚や好酸球および好中球の浸潤といった組織のアレルギー反応は、脱神経され神経ペプチドが消失した粘膜においても起こりうることを示唆していた。

また後鼻神経切断術がアレルギー症状およびサイトカインの発現に及ぼす影響の検討では、鼻汁量は OVA 感作群により無感作群と比較し増加していたが、OVA 感作+後鼻神経切断群では OVA 感作単独群に比較し有意に減少していた。一方で鼻掻き、くしゃみの行動実験においては、OVA 感作単独群と OVA 感作+後鼻神経切断群間には有意な差をみとめなかった。鼻粘膜の定量 PCR では、OVA 感作単独群では IL-4 の発現亢進及び IFN- γ の発現低下をみとめたが、これは OVA 感作+後鼻神経切断群でも同様の所見であった。これらの結果から、後鼻神経切断術はアレルギー性鼻炎モデルに対して、鼻汁量の抑制には効果があるが、過敏症

状，および粘膜におけるサイトカインの発現には影響が少ないことが示された。

後鼻神経切断のアレルギー性鼻炎の病態に与える影響をさらに調べるためにヒスタミンを用いて検討を行った。ヒスタミンの点鼻による増強する鼻掻き・くしゃみは後鼻神経切断群でも同様に認められた。ヒスタミン点鼻前に抗ヒスタミン薬を投与すると、これらの過敏症状はコントロール群，後鼻神経切断群ともに抑制された。後鼻神経切断術後の鼻粘膜では、知覚神経の多くは脱神経しているにも関わらず、ヒスタミン刺激により鼻掻き，くしゃみなどの症状が出現し，抗ヒスタミン薬で抑制されたことから，後鼻神経はヒスタミンを介したアレルギー反応において主要な役割を担っていないことが示唆された。また片側の後鼻神経切断側にヒスタミン点鼻をすると対側の鼻汁分泌が促されたことは後鼻神経以外を介した残存する神経反射の存在が示唆された。

さらに後鼻神経切断術に伴う粘膜の脱神経が，鼻粘膜に長期的に与える影響についての検討をおこなった。後鼻神経切断後，2 週間，12 週間の鼻粘膜では鼻粘膜呼吸上皮の変化はみられなかったが，切断後 24 週および 48 週では，後鼻神経切断側の呼吸上皮で正常形態を保った腺組織の減少とともに，扁平上皮化生，上皮下の杯細胞化生，粘液の貯留を認め，膠原組織の増加と基底膜の肥厚所見および細胞浸潤を認めた。これらの所見からは，後鼻神経切断術後の長期経過では鼻粘膜のリモデリングが起きていることが示唆された。神経の再生に関する検討では，神経線維マーカーである PGP 9.5 は，後鼻神経切断後 12 週より徐々に再発現をみとめ，経過とともにその数が増えていき，48 週で約 40%程度まで再生してきていることが確認された。神経ペプチドも同様に再出現がみとめられ，再生した神経には交感，副交感，知覚神経のいずれも含まれていることが示唆された。一方で鼻汁量の検討では，切断後 48 週において後鼻神経切断側では非切断側と比較し少ないままであった。アセチルコリントランスフェラーゼは後鼻神経後 48 週の鼻粘膜でも発現をみとめないままであり，後鼻神経切断に遷延する鼻汁量減少の原因として，粘膜における腺形態の変化と併にアセチルコリンの合成不全が遷延していることが示唆された。

さらに後鼻神経切断術後の組織変化の病態を調べるためにマイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行った。後鼻神経切断後 2 週間の鼻粘膜呼吸上皮におけるマイクロアレイの解析では，0.16%の遺伝子の発現が亢進しており，0.15%の遺伝子の発現が低下していた。特に Bdnf など神経再生に関わる遺伝子の発現亢進をみとめた。これら遺伝子変化に対して Gene Ontology 解析を行ったところ，後鼻神経切断群で transmission of nerve impulse や axon target recognition など，神経の伝達や分化に関する遺伝子群が有意に変動しており，鼻粘膜の支配神経切断後粘膜における神経の変性や再生という変化を示唆していた。アレルギー性鼻炎に関わる免疫系に関する変化や，組織のリモデリングに関する変化は今回行った解析では認めなかった。

以上の実験を通して，後鼻神経切断術が鼻粘膜の生理機能およびアレルギー性鼻炎の病態に及ぼす影響に関して新たな基礎的なエビデンスを提示することができた。