

## 【別紙 2】

### 審査の結果の要旨

氏名 西 篤 大宣

本研究は、鼻粘膜における神経制御および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ために、後鼻神経切断術モデル動物を作成し、支配神経の切断が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術が、長期的に鼻粘膜に及ぼす影響についても検討をし、以下の結果を得ている。

1. 後鼻神経切断後 2 週間の鼻粘膜呼吸上皮では、鼻粘膜呼吸上皮の大部分で神経線維マーカーである 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（Neuropeptide Y、Vasoactive intestinal peptide、Substance P、Calcitonin Gene-Related Peptide）の免疫染色における発現低下をみとめた。これらから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された。
2. 後鼻神経切断術後の鼻汁量の検討からは、神経切断側において鼻汁量が減少していた。アセチルコリンの受容体の免疫染色およびコリン作動薬を用いた実験からは、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低下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。
3. Ovalbumin(OVA)の腹腔内投与および点鼻により、アレルギー性鼻炎感作モデルを作成した。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。一方でこの感作モデルに後鼻神経切断術を行った群では、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しても、後鼻神経切断術は鼻粘膜の脱神経を引き起こすことが確認された。さらにアレルギー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所見は、後鼻神経切断後の粘膜において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。

4. 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、OVA 感作により増加した鼻汁量は後鼻神経切断術により抑制された。一方で鼻搔き、くしゃみの行動実験では、感作により惹起された過敏症状は、後鼻神経切断術後も変化がなかった。鼻粘膜の定量 PCR では、OVA 感作でみられた IL-4 の発現亢進及び IFN- $\gamma$  の発現低下は、後鼻神経切断後も変化がなかった。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。
5. ヒスタミンを用いた検討では、ヒスタミンの点鼻による増強する鼻搔き・くしゃみは後鼻神経切断群でも同様に認められた。抗ヒスタミン薬の投与により、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搔き、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から、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。
6. 後鼻神経切断術が、鼻粘膜呼吸上皮へ長期的に与える影響についての検討では、後鼻神経切断後 24 週および 48 週において、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、膠原組織の増加、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、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、後鼻神経切断後 48 週で約 40%程度まで再生し、その再生した神経には交感、副交感、知覚神経が含まることが示された。一方で鼻汁量の検討では、切断後 48 週も少ないままであり、これは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。
7. マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析および Gene Ontology 解析では、後鼻神経切断粘膜において *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の変動がみとめられ、支配神経切断後鼻粘膜におけ

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認めなかった。

以上、本論文は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ついて明らかにした。本研究では、支配神経の切断が鼻粘膜に及ぼす影響を明らかにすることで、診療でおこなわれている後鼻神経切断術の新たな基礎的なエビデンスの構築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。