

## 論文の内容の要旨

論文題目 加齢に伴うマウス嗅神経およびその支持組織の形態学的、細胞動態学的変化に関する研究

氏 名 渡 辺 健 太

### [序論]

哺乳類の嗅覚系の末梢化学受容器である嗅粘膜は鼻腔の後上部に位置し、嗅上皮と粘膜固有層に分けられる。嗅上皮は主に 3 種の細胞系からなる多列層構造を示し、下層に位置する globose basal cell (GBC)が嗅神経の前駆細胞として存在し、徐々に表層に移動、olfactory receptor neuron(ORN)に分化し軸索を嗅球に投射するというターンオーバーを生涯繰り返す。嗅上皮の下層である粘膜固有層には嗅粘膜を覆う粘液を産生する Bowman 腺や血管、嗅神経軸索の集合である神経束が存在する。このように嗅上皮は中枢神経系の一部でありながら生後も高い再生能力を有しているが、聴覚や視覚といった他の感覚系と同様に嗅覚も加齢に伴い減退することが知られている。65~80 歳の年齢群では半数以上、80 歳を超える年齢群では 75%以上の人口が何らかの嗅覚障害があると報告されているものの、加齢に伴う嗅覚減弱の病態生理のメカニズムについてはほとんど明らかにされていない。また、中枢神経系でありながら生涯にわたり再生を繰り返すという特殊な能力は再生医療への応用にも期待がもてる。このような背景から、本研究では加齢モデルマウスを用い、加齢変化に伴う嗅上皮の神経細胞および支持組織の olfactory ensheathing cell (OEC) や Bowman 腺の形態学的、細胞動態学的変化を検討した。

## [方法]

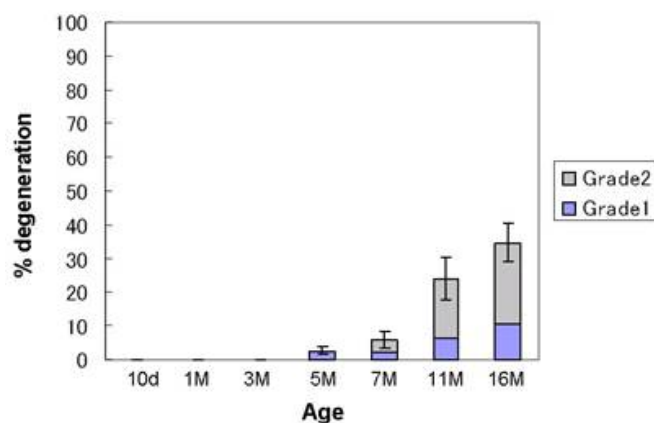
生後 10 日～16 ヶ月までの加齢モデルマウス標本を用い、光学顕微鏡下に免疫組織化学、組織化学的手法により、嗅上皮、Bowman 腺および OEC の形態学的、機能的変化や細胞動態の変化を調べた。細胞増殖能の指標として BrdU、幹細胞様能の指標として Musashi-1 の発現を解析した。また、細胞栄養因子である FGF-2 およびその受容体の発現を粘膜固有層の OEC 周囲で観察した。嗅上皮長の計測や OEC 細胞密度の計測の際には画像解析ソフトなどコンピューターも用いた。さらに ORN 軸索断面を透過型電子顕微鏡を用いて観察し、軸索径や軸索密度を計測した。

## [結果]

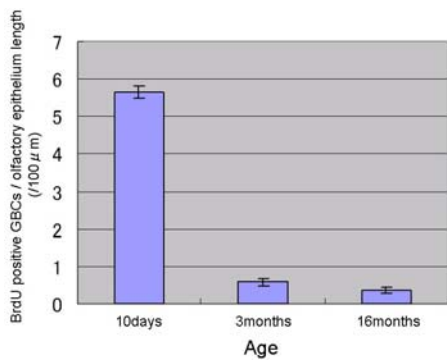
生後 5 ヶ月以降のマウス嗅粘膜では変性が明らかとなり、嗅上皮の菲薄化、呼吸上皮化生などもみとめられた。嗅粘膜全体に対する変性の割合は加齢とともに統計学的有意差をもって増加することが明らかとなった。また、粘膜下に存在する Bowman 腺にも形態異常がみとめられ、この異常は嗅上皮の変性と有意に相関することが明らかとなった。

嗅上皮において BrdU は主に GBC に陽性となり、GBC の増殖活性の指標として計算した単位嗅上皮長あたりの BrdU 陽性 GBC 数は生後 10 日から 3 ヶ月の間に有意差をもって減少した。

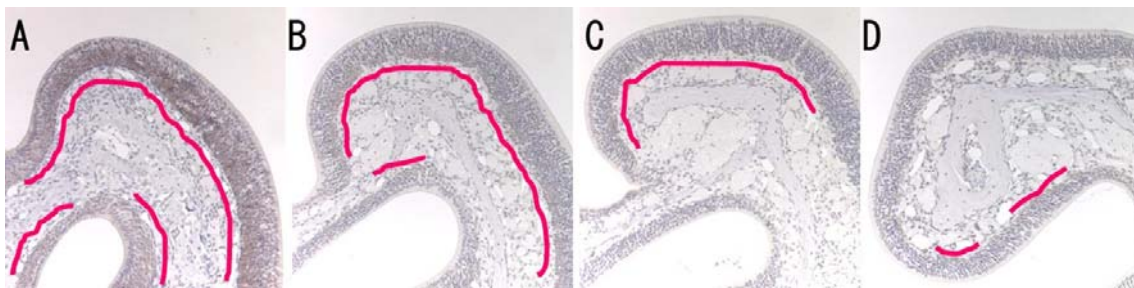
神経幹細胞のマーカである Musashi-1 の発現は GBC および一部の未熟 ORN にみとめられた。10 日齢マウスにおいては嗅上皮のほぼ全長にわたり嗅上皮基底部に明瞭に確認されたが、加齢によりその発現部位は減少し島状の分布となった。ただし、生後 16 ヶ月の老化マウスにおいても限局的ではあるが Musashi-1 発現をみとめた。



加齢による嗅上皮変性の進行



加齢による GBC 増殖能の変化



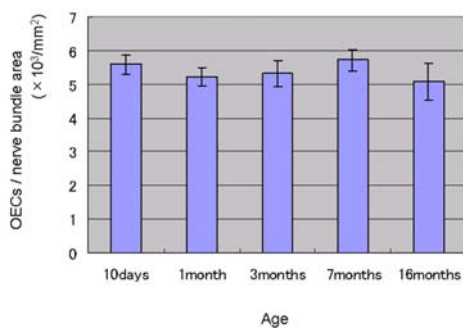
加齢による Musashi-1 発現の変化

A:生後 10 日 B:生後 1 ヶ月 C:生後 3 ヶ月 D:生後 16 ヶ月

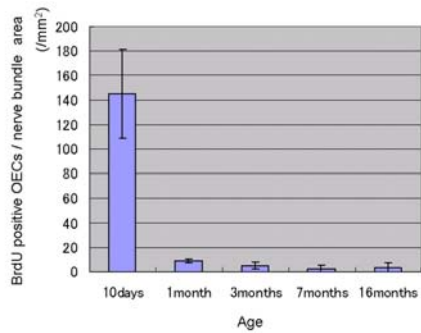
電子顕微鏡による観察では、嗅神経軸索径は生後 10 日から生後 3 ヶ月の間に有意に減少したものの、軸索の密度は加齢による変化を示さなかった。変性の強い老化マウスにおいても、残存した ORN 軸索には形態学的異常をみとめなかった。

OEC 細胞密度は月齢による統計学的有意差はみとめなかったが、OEC 細胞増殖活性は生後 10 日から 30 日で統計学的有意差をもって急激に減少した。この増殖活性の減少パターンは他の末梢嗅覚器の細胞種と同様のパターンであったが、BrdU labeling index は他細胞種より極めて低値であった。

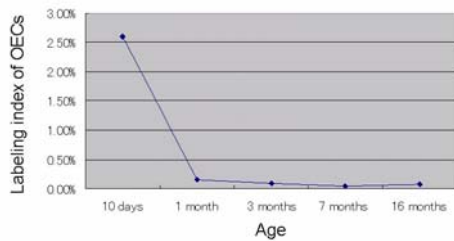
一部の OEC は FGF-2 に陽性となり、全 OEC に対する FGF-2 陽性 OEC の割合は生涯にわたり約 35% で有意な変化をみとめなかった。FGF 受容体に関しては FGFR-2 と FGFR-3 が加齢性変化を伴わずに粘膜固有層の ORN 軸索に発現をみとめた。



加齢に伴う OEC 細胞密度の変化



加齢に伴う OEC 増殖活性の変化



加齢に伴う OEC の BrdU labeling index の変化

### [考察]

加齢により嗅上皮および **Bowman** 腺は組織学的に変性が進行することが明らかとなった。これらの形態学的変化が示されただけでなく、増殖能や幹細胞様能といった機能面でも退行性変化を起こすことが明らかとなった。このことは老化マウスが若年マウスに比較し嗅上皮傷害時に組織学的な回復に時間がかかり、かつ不完全であるという事実と符合する結果でもあり、実際のヒトの臨床において、高齢者ほど嗅覚障害の回復率が低下するという事実とも一致する。また、**Bowman** 腺の明確な機能は未だ解明されていないが、加齢によるその機能低下も推測される。

加齢による **ORN** 軸索の細小化は加齢による嗅神経の伝導速度が低下することも示唆し、また、神経の成熟度と軸索径の相関も推測させる。ただし軸索の密度には変化がなく、細胞間隙や神経束内の小血管、**OEC** の突起などが増加する可能性を示している。

**OEC** の細胞増殖活性は他の細胞種と同様のパターンで低下するが、**BrdU labeling index** はかなり低値であり、**OEC** が末梢嗅覚系において比較的安定した存在であることを示している。細胞密度においても他の中枢神経系グリアでは加齢に伴い増加する傾向にある一方、**OEC** では一定を保った。これらの細胞動態は **OEC** の生物学的特徴であり、生涯にわたる **ORN** の安定した軸索延長や嗅球への軸索誘導に寄与している可能性があると考えられた。**OEC** 周囲の **FGF-2** やその受容体の発現に加齢性変化がないこともこの安定性を裏付ける結果であると思われる。これらの結果は加齢に伴う嗅覚障害の病態解明や治療だけでなく、嗅粘膜細胞を用いた再生医療への臨床応用に向けての基礎的な知識として貢献できるものと期待される。