

学位論文審査結果の要旨

氏名	甲斐成彦
審査委員	主査 白石 敦 副査 高尾 正樹 副査 太田 雅明 副査 岡 靖哲 副査 三浦 史郎

論文名 嗅覚障害モデルの嗅上皮再生に対する CGF 鼻腔内投与の効果
審査結果の要旨

【研究内容のまとめ】

(背景)

嗅覚障害は QOL に多大な影響を与え、人口の約 1~3% が罹患していると報告されている。亜鉛製剤やビタミン A など様々な薬剤や、嗅神経細胞の再生を期待した種々の成長因子を用いた治療法が期待されているが、いまだ確立された治療方法はない。COVID-19 の流行により嗅覚障害の罹患率は増加しており、有効な治療法の開発が望まれている。近年、嗅覚障害モデル動物に対し、複数の成長因子を含有する多血小板血漿 (PRP) による嗅上皮の再生が証明され、COVID-19 罹患後の嗅覚障害に対して、PRP 投与による改善効果が報告されている。しかしながら PRP の投与には鼻内への局所注射が必要であり、疼痛や出血といった問題もある。そこで申請者らは、PRP を改良した血漿分画である concentrated growth factors (CGF) に着目した。CGF は、抗凝固剤を用いずに遠心分離機で作製可能であり、ゲル状であることから嗅裂に静置するだけで、含有成長因子を徐放化して放出する特性があり、嗅上皮再生の新たな治療法として期待できる。本研究では嗅覚障害モデル動物に対して、CGF の鼻腔内投与が嗅上皮再生に与える影響を検証した。

(方法)

12 週齢の Wister/ST ラット (male) に 3-methylindole (3-MI) を腹腔内投与して、嗅覚障害モデ

ルを作成した。3-MI 投与 1 週間後に、健常なラットの血液から生成した CGF を、ラットの両側鼻腔内にマイクロピペットを用いて 50 μ l ずつ投与し、対照群には生理食塩水を用いた。嗅覚評価行動試験として、バニリン 2 瓶嗜好性試験を用い、3-MI の投与後 5 週間行動評価した。また、CGF/生理食塩水投与後 4 週に組織学的観察および嗅神経細胞が発現する嗅覚マーカータンパク質 (OMP) に対する免疫組織染色を行った。

(結果)

行動評価において 3-MI の投与により忌避率の低下を認め、嗅覚障害が引き起こされることが証明できた。しかし、CGF または生理食塩水投与後 4 週まで、忌避率の改善を示すことはなかった。組織学的には、CGF 投与後 4 週時点の嗅上皮の厚さは、生理食塩水群に対し有意に増加していた。また、CGF 投与群において OMP 陽性細胞数は、生理食塩水群に対し有意に増加していた。

(結論)

CGF 群では、嗅上皮の厚さ及び OMP 陽性細胞数の改善を認めたことにより、CGF による嗅上皮の再生誘導が可能であることが示された。嗅覚障害の改善が行動して示されなかったことは、正常ラットと比較すると嗅上皮内の嗅神経細胞量が少なかったことに起因すると考えられ、長期的な観察が必要と考えられた。CGF の鼻腔内投与は嗅覚障害の新たな治療法となり得る可能性が示された。

本論文に対する公開審査会は令和 6 年 1 月 24 日に開催された。申請者から研究内容が英語による口頭発表された後に、審査委員から本研究に関連する以下の質問がなされた。

研究方法について、(1) 行動変化に有意差が出なかった原因について、CGF 投与方法、投与時期は適切であったか、また評価ポイントは適切であったか。(2) CGF は均一に作成することができるのか。(3) 行動評価法について、今回は忌避作用を採用したが、他に方法はなかったか。(4) 免疫染色では OMP 以外の候補もあるのか。

研究内容について、(5) bFGF や PRP を比較対象として行う必要はなかったか。(6) 嗅上皮細胞がどの程度回復すれば嗅覚は回復するのか、また今回観察期間を延長すれば行動変化にも有意差が出た可能性はあるか。(7) 今回の動物モデルでは、嗅粘膜以外に中枢性の障害はおこすのか。(8) COVID-19 による嗅覚モデルとなりえるのか。

さらに、本研究を臨床応用に向けてどのような展望を考えているのについて、(9) CGF の副作用についての評価は。(10) CGF 投与方法についての工夫は。などの多くの質問がなされた。

これらの質問に対して申請者は、質問の意図を十分に理解した上で、詳細かつ明確に応答した。本論文は、嗅覚障害モデル動物に対する CGF の効果について検討したもので、CGF が嗅上皮再生効果を持つという新たな知見を含んでおり、今後の臨床応用への発展が大いに期待される。審査委員は全員一致して本論文を高く評価し、博士 (医学) の学位論文に値するものと結論した。