

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08001

研究課題名(和文) 多系統萎縮症の脳内 シヌクレイン異常凝集に対する腸内細菌叢の関与の解明

研究課題名(英文) Impact of altered gut microbiota in multiple system atrophy

研究代表者

前田 哲也 (Maeda, Tetsuya)

岩手医科大学・医学部・教授

研究者番号：70359496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：パーキンソン病(PD)と多系統萎縮症(MSA)は共にシヌクレインパチーであるがMSAでは腸内細菌叢研究が乏しい。本研究では次世代シーケンサーによる16S rRNA解析を行い、属レベルで136個の細菌を検出した。MSA12例と健常者147名を比較したところ、genus EubacteriumのみMSAで有意差な増加を認めた。PDで増加するgenus AkkermansiaはMSAでも増加傾向にあり、PDで減少するgenera Faecalibacterium、Fusicatenibacterは減少傾向にあった。MSAにはPDとは異なる特有の腸内細菌叢が存在する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パーキンソン病(PD)と多系統萎縮症(MSA)はシヌクレインが関与する運動障害疾患である。PDでは発症に腸内細菌叢の関与が指摘されている一方、MSAは便秘を高頻度に合併するが腸内細菌叢研究は乏しい。本研究によりMSAではgenus Eubacteriumが有意差に増加することが分かった。PDで増加するgenus AkkermansiaはMSAでも増加傾向で、PDで減少するgenera Faecalibacterium、Fusicatenibacterは減少傾向であった。MSAにはPDとは異なる特有の腸内細菌叢が存在することが示され、MSAの病態解明および治療法の開発に重要な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Parkinson's disease (PD) and multiple system atrophy (MSA) are both -synucleinopathies. While PD is characterized by abnormal microbiota, MSA is less well studied. In this study, we enrolled 18 patients with MSA and their cohabitants, performed 16S rRNA analysis by next-generation sequencing, and analyzed bacterial composition using Qiime2. Samples with a non-zero relative abundance ratio of at least 20% for each bacterium at the genus level were included in this analysis. We could obtain microbiota from 12 patients with MSA and compare to 147 healthy subjects. After the Wilcoxon rank sum test and adjustment by Bonferroni test, only genus Eubacterium showed a significant increase in MSA. Genus Akkermansia, which is increased in PD, showed an increasing trend in MSA. Genera Faecalibacterium and Fusicatenibacter, which are decreased in PD, showed a decreasing trend in MSA. The results of this study suggest that MSA may have a specific abnormal microbiota different from PD.

研究分野：脳神経内科

キーワード：多系統萎縮症 腸内細菌叢

## 1. 研究開始当初の背景

多系統萎縮症（multiple system atrophy; MSA）はパーキンソン病（Parkinson's disease; PD）と同様に  $\alpha$  シヌクレインの異常凝集を病理学的特徴とし、小脳失調、パーキンソニズム、自律神経障害を臨床的特徴とするため、小脳バリエント（cerebellar variant; MSA-C）、パーキンソンバリエント（parkinson variant; MSA-P）に大別されている。 $\alpha$  シヌクレイン病理は神経細胞内では Lewy 小体を形成せず、オリゴデンドログリアにも蓄積する点で PD とは異なる。一般に 40 歳以降に発症し、病期の進行により臨床症状は重複してくる。特異的な治療方法は未だないため予後不良な疾患である。

PD における腸内細菌叢の研究から  $\alpha$  シヌクレイン異常凝集及び中枢神経への進展と腸内細菌叢には関連性があることが徐々に明らかにされつつあり、世界的にも関心が高まっている。しかし、同じ  $\alpha$  シヌクレイン異常凝集を病理学的背景に有する MSA では、自律神経機能障害による消化管障害を効率的に合併するものの、腸内細菌叢に関する研究が極めて少ない。MSA にも腸内細菌叢の変化が関与する可能性が強く疑われるものの、PD と比較するとまだ不明なことばかりである。

## 2. 研究の目的

本研究は、MSA の腸内細菌叢の組成分析から着手し、縦断的研究により臨床経過との関連性から疾患関連原因菌と同結果菌の鑑別を明らかにすることを目的とした。

本研究成果に基づいて、メタゲノム解析により機能的役割を解明し、プロバイオティクス技術を用いた短期的あるいは長期的治療介入、 $\alpha$  シヌクレイン異常凝集に関連する腸内細菌叢を用いたモデル動物の開発、動物実験により腸内細菌叢を修飾する新規治療薬探索、患者から得られる生体サンプルを用いたオミックス解析と疾患バイオマーカーなどの検出、バイオマーカー候補による患者由来の iPS 細胞を用いた in vitro での創薬研究、などへ発展させることで MSA 治療の実現することが最終目標である。

## 3. 研究の方法

### ①MSA の腸内細菌叢の 16S rRNA 遺伝子解析による横断解析

MSA 患者の消化管細菌叢を横断的に解析するため MSA 患者と健常者の採便を行い 16S rRNA 遺伝子解析を行った。次世代シーケンサー MiSeq を用いて解析した。Qiime2 を用いて菌組成を解析し、予測メタゲノム解析には、PICRUSt1.1.2 や Piphillin server を用いた。MSA 患者と健常対照者を比較することで統計学的に腸内細菌叢の組成の違いを明らかにした。

### ②MSA の臨床症状、形態及び機能画像所見の縦断解析

MSA 臨床重症度（unified MSA rating scale: UMSARS）、神経所見、神経心理検査（minimal state examination: MMSA, 日本語版 Montreal cognitive assessment: MoCA-J など）、脳形態画像、脳機能画像、服薬状況、食生活調査、排便状況、便性状調査などの情報を取得し経時的に追跡する。研究登録時のベースラインと 2 年後の追跡調査を行うことで、MSA 患者及び対照との比較により腸内細菌叢の病態の促進あるいは抑止因子としての関わりを明らかにする。

## 4. 研究成果

外来通院中の MSA 患者 18 名とその同居者から研究参加同意を取得した。そのうち 6 名から便検体の提供が得られず、その理由の内訳は採取困難 3 名、他の疾患による入院療養のため 1 名、通院困難 1 名、同意取り下げ 1 名。登録した 12 名の臨床病型は MSA-C が 7 名（男性 5 名、女性 2 名）、MSA-P が 5 名（男性 2 名、女性 3 名）であった。臨床背景として、平均年齢は  $65.4 \pm 10.7$ 、平均罹病期間は  $2.75 \pm 1.42$  であった。臨床重症度 UMSARS スコアは総スコア  $30.6 \pm 11.2$  (part I スコア  $15.7 \pm 6.13$ 、part II スコア  $15.7 \pm 6.13$ )、スティック型嗅覚同定能力検査 (Odor Stick Identification Test for Japanese; OSIT-J) は  $7.70 \pm 2.71$ 、MMSE は  $27.2 \pm 2.61$ 、MoCA-J は  $24.3 \pm 4.35$ 、Frontal Assessment Battery (FAB) は  $14.6 \pm 3.86$  であった。MSA 患者 12 名の腸内細菌叢 16S rRNA 解析を行い、その健常同居者を含む 147 人の健常対照者と統計学的に比較検討した。属レベルで解析を行い、各細菌に対してゼロでない相対存在比率を持つサンプルが 20% 以上を解析対象とした。この相対存在比率による filtering により 136 個の細菌が残った。さらに、Wilcoxon rank sum test を行い多重比較検定補正として Bonferroni 補正をしたところ、MSA 患者では genus Eubacterium のみ相対存在比率に有意差な増加 ( $p < 0.01$ ) を認めた (図 1)。また、genus Akkermansia は増加傾向、genus Faecalibacterium、genus Fusicatenibacter は減少傾向を認めた。表 1 に Wilcoxon rank sum test で p 値の低い順に 10 菌種を示した。

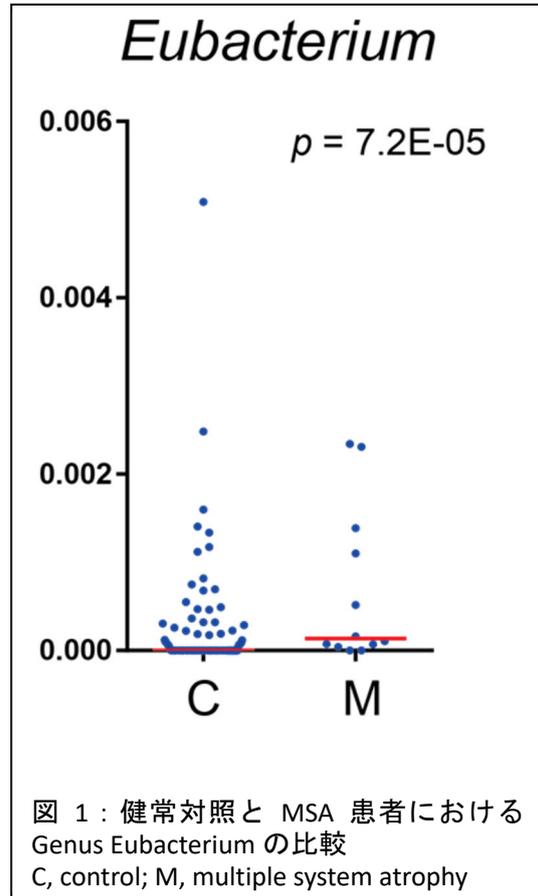


図 1：健常対照と MSA 患者における Genus Eubacterium の比較  
C, control; M, multiple system atrophy

表 1 コントロールと MSA で p 値が低い 10 菌種

Genus	P-value	P-value after Bonferroni correction	increased or decreased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Eubacteriales;f__Eubacteriaceae;g__Eubacterium	7.2E-05	9.8E-03	increased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridia_vadinBB60_group;f__Clostridia_vadinBB60_group;g__Clostridia_vadinBB60_group	5.7E-04	0.077	increased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Lachnospirales;f__Lachnospiraceae;g__Eisenbergiella	2.4E-03	0.324	increased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Oscillospirales;f__Ruminococcaceae;g__UBA1819	3.5E-03	0.47	increased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Lachnospirales;f__Defluviitaleaceae;g__Defluviitaleaceae_UCG-011	7.4E-03	1	increased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Oscillospirales;f__Oscillospiraceae;g__uncultured	7.7E-03	1	increased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Christensenellales;f__Christensenellaceae;g__Christensenellaceae_R-7_group	9.9E-03	1	increased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Oscillospirales;f__Ruminococcaceae;g__uncultured	0.018	1	increased

d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Oscillospirales;f__Oscillospiraceae;g__UCG-005	0.019	1	increased
d__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Peptostreptococcales-Tissierellales;f__Peptostreptococcaceae;g__Intestinibacter	0.020	1	decreased

本研究では MSA 患者で genus *Eubacterium* の有意な増加を認めた。この結果は他国からの既報とは異なっていた。我々の先行研究では PD でも人種などにより腸内細菌叢の組成分布が異なっていることから MSA 患者でも同様の可能性が考えられた。また、PD で認められる *Akkermansia* の増加と短鎖脂肪酸産生菌の減少は MSA では有意な変化は認められなかったが、増加および減少の傾向を認めた点で、同じ  $\alpha$  シヌクレイノパチーでありながら発症病態の違いを反映している可能性が考えられ、興味深い結果と考えられた。

本研究は少数例での検討であったため、結果は限定的であると言わざるを得ない。従って臨床背景などによる比較は本研究では十分に行うことはできなかった。今後も患者数を増やすことによりさらに詳細な検討を行う必要があると考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nishiwaki Hiroshi, Ito Mikako, Ishida Tomohiro, Hamaguchi Tomonari, Maeda Tetsuya, Kashihara Kenichi, Tsuboi Yoshio, Ueyama Jun, Shimamura Teppei, Mori Hiroshi, Kurokawa Ken, Katsuno Masahisa, Hirayama Masaaki, Ohno Kinji	4. 巻 35
2. 論文標題 Meta Analysis of Gut Dysbiosis in Parkinson's Disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Movement Disorders	6. 最初と最後の頁 1626 ~ 1635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds.28119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishiwaki Hiroshi, Hamaguchi Tomonari, Ito Mikako, Ishida Tomohiro, Maeda Tetsuya, Kashihara Kenichi, Tsuboi Yoshio, Ueyama Jun, Shimamura Teppei, Mori Hiroshi, Kurokawa Ken, Katsuno Masahisa, Hirayama Masaaki, Ohno Kinji	4. 巻 5
2. 論文標題 Short-Chain Fatty Acid-Producing Gut Microbiota Is Decreased in Parkinson's Disease but Not in Rapid-Eye-Movement Sleep Behavior Disorder	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 mSystems	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mSystems.00797-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Iwaoka Kazuhiro, Otsuka Chigumi, Maeda Tetsuya, Yamahara Kanako, Kato Kanako, Takahashi Kenta, Takahashi Kai, Terayama Yasuo	4. 巻 714
2. 論文標題 Impaired metabolism of kynurenine and its metabolites in CSF of parkinson's disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 134576 ~ 134576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2019.134576	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Kenta, Iwaoka Kazuhiro, Takahashi Kai, Suzuki Yoshio, Taguchi Keita, Yamahara Kanako, Maeda Tetsuya	4. 巻 757
2. 論文標題 Cerebrospinal fluid levels of oxidative stress measured using diacron-reactive oxygen metabolites and biological antioxidant potential in patients with Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 135975 ~ 135975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2021.135975	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Kai, Nishiwaki Hiroshi, Ito Mikako, Iwaoka Kazuhiro, Takahashi Kenta, Suzuki Yoshio, Taguchi Keita, Yamahara Kanako, Tsuboi Yoshio, Kashihara Kenichi, Hirayama Masaaki, Ohno Kinji, Maeda Tetsuya	4. 巻 95
2. 論文標題 Altered gut microbiota in Parkinson's disease patients with motor complications	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 11~17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parkreldis.2021.12.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 田口啓太、岩岡和博、野崎亮太、山口隆、鈴木啓生、高橋海、高橋健太、前田哲也	4. 巻 31
2. 論文標題 Parkinson病患者を対象とした発症前駆症状に関する後方視的検討	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 運動障害	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirayama Masaaki, Nishiwaki Hiroshi, Hamaguchi Tomonari, Ito Mikako, Ueyama Jun, Maeda Tetsuya, Kashihara Kenichi, Tsuboi Yoshio, Ohno Kinji	4. 巻 16
2. 論文標題 Intestinal Collinsella may mitigate infection and exacerbation of COVID-19 by producing ursodeoxycholate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0260451~0260451
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0260451	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ito Kenji, Ohtsuka Chigumi, Yoshioka Kunihiro, Maeda Tetsuya, Yokosawa Suguru, Mori Futoshi, Matsuda Tsuyoshi, Terayama Yasuo, Sasaki Makoto	4. 巻 26
2. 論文標題 Differentiation Between Multiple System Atrophy and Other Spinocerebellar Degenerations Using Diffusion Kurtosis Imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Academic Radiology	6. 最初と最後の頁 e333-e339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.acra.2018.12.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 前田哲也
2. 発表標題 パーキンソン病治療とMAO-B阻害薬
3. 学会等名 第19回釧路ニューロサイエンスワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田哲也
2. 発表標題 パーキンソン病の運動症状はいつまで治療するのか
3. 学会等名 第61回日本神経学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田哲也
2. 発表標題 パーキンソン病の初期治療
3. 学会等名 第10回MDSJ教育研修会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田哲也
2. 発表標題 認知症と神経変性疾患
3. 学会等名 5th World Parkinson Congress（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takafumi Suzuki, Tetsuya Maeda
2. 発表標題 Tremor of both lower limbs appearing in standing position
3. 学会等名 第13回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田口啓太、岩岡和博、野崎亮太、山口隆、鈴木啓生、高橋海、高橋健太、前田哲也
2. 発表標題 Parkinson病患者を対象とした発症前駆症状に関する後方視的検討
3. 学会等名 第60回日本運動障害研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋健太、岩岡和博、高橋海、田口啓太、前田哲也
2. 発表標題 パーキンソン病および関連疾患の酸化ストレスに関する脳脊髄液を用いた検討
3. 学会等名 第62回日本神経学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前田哲也
2. 発表標題 パーキンソン病と歯周疾患
3. 学会等名 第64回春季日本歯周病学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田口啓太、野崎亮太、山口隆、鈴木啓生、高橋海、高橋健太、岩岡和博、前田哲也
2. 発表標題 Parkinson病患者を対象とした発症前リスク因子に関する後方視的検討
3. 学会等名 第15回パーキンソン病運動障害疾患 कांग्रेस
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋海、平山正昭、坪井義夫、柏原健一、伊藤美佳子、田口啓太、鈴木啓生、高橋健太、山原可奈子、岩岡和博、大野欽司、西脇寛、前田哲也
2. 発表標題 パーキンソン病における運動合併症と腸内細菌叢に関する研究
3. 学会等名 第15回パーキンソン病運動障害疾患 कांग्रेस
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kai Takahashi, Hiroshi Nishiwaki, Mikako Ito, Kazuhiro Iwaoka, Kanako Yamahara, Kenta Takahashi, Yoshio Suzuki, Keita Taguchi, Yoshio Tsuboi, Kenichi Kashihara, Masaaki Hirayama, Kinji Ohno, Tetsuya Maeda
2. 発表標題 Gut dysbiosis in Parkinson's disease with motor complications
3. 学会等名 MDS Virtual Congress 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 K. Takahashi, K. Iwaoka, K. Takahashi, Y. Suzuki, K. Taguchi, K. Yamahara, T. Maeda
2. 発表標題 Cerebrospinal fluid levels of oxidative stress measured using diacronreactive oxygen metabolites and biological antioxidant potential in patients with Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy
3. 学会等名 MDS Virtual Congress 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroshi Nishiwaki, Tomonari Hamaguchi, Mikako Ito, Tetsuya Maeda, Kenichi Kashihara, Yoshio Tsuboi, Masahisa Katsuno, Masaaki Hirayama, Kinji Ohno
2. 発表標題 Gut microbiota in patients with Parkinson's disease (PD) predicts disease progression better than clinical features
3. 学会等名 MDS Virtual Congress 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前田 哲也
2. 発表標題 パーキンソン病の新しい治療戦略 進行期薬物療法
3. 学会等名 第39回日本神経治療学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前田 哲也
2. 発表標題 パーキンソン病研究小括
3. 学会等名 第61回日本運動障害研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 柏原 健一、武田 篤、前田 哲也、波田野 琢	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 148
3. 書名 みんなで学ぶパーキンソン病 (改訂第2版)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	大野 欽司  (Ohno Kinji)  (80397455)	名古屋大学・医学系研究科・教授    (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関