

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08742

研究課題名(和文) 虫垂切除がパーキンソン病に与える影響に関する機構解明

研究課題名(英文) Mechanism elucidation for influences of the Parkinson disease after appendectomy

研究代表者

福永 哲 (Fukunaga, Tetsu)

順天堂大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：20245731

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アルファ・シヌクレイン(AS)とパーキンソン病(PD)との関連について、腸管ASが脳へ伝搬されることがPD発症の要因となりうるかという問いに対して、虫垂ASの凝集メカニズム解析を目的として、慢性虫垂炎手術摘出した虫垂26例を用いてWestern blot法(WB)によるASタンパク発現の検討を行ったところ、脂質による泳動の乱れをとらえることが出来た。そこで、脂質除去処理を行ったところ、バンドが明確になりASの発現量を正確に捉えられることができた。虫垂炎患者26症例すべてにASモノマーが存在していることを見出した。さらに、切断型ASモノマーが26症例中20症例で存在していることも確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パーキンソン病(PD)は神経変性疾患の1つでわが国では約20万人が罹患している。2018年にKillingerらのコホート研究により、虫垂切除がPD発症リスクを20%も抑えるという報告を受け、腸管の中でも虫垂内で、原因物質であるアルファ・シヌクレイン(AS)が何らかの影響を受け、これが脳へ伝搬される可能性が指摘された。今回の我々の研究で、虫垂内にASが豊富に存在すること。さらに、脂質によりASが凝集している事象をつかむことが出来た。PDの患者さんでもASは虫垂内に豊富に存在することから、脂質に修飾されたASが起すメカニズムについて、次の研究費を頂き、このさらに迫るつもりである。

研究成果の概要(英文)：To answer the question of whether the transmission of intestinal AS to the brain a factor in the development of Parkinson's disease (PD) is, we examined the expression of AS protein by the Western blot method (WB) using 26 surgically removed appendices for chronic appendicitis to analyze the aggregation mechanism of appendiceal AS. The WB method was used to examine the expression of AS protein in 26 appendices removed by surgery for chronic appendicitis, and the method was able to capture the lipid-induced disruption of migration. After lipid removal treatment, the bands became clearer, and the amount of AS expression could be accurately captured. We found that AS monomers were present in all 26 appendicitis patients. We also confirmed that truncated AS monomers were present in 20 of the 26 patients.

研究分野：消化器外科(上部)

キーワード：パーキンソン病 シヌクレイン 虫垂 脂肪代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

AS が関係する代表的な疾患としてパーキンソン病(PD)がある。PD は神経変性疾患の1つで50~60代の更年期から初老期にかけて発症する。日本では約20万人がPDを患っており、アルツハイマー病の次に有病率の高い神経変性疾患である。近年、腸管ASが脳へ伝搬されることがPD発症の要因となりうることが議論されている。そして、2018年にKillingerらのコホート研究により、虫垂切除がPD発症リスクを20%も抑えるという報告^[1]を受け、腸管の中でも虫垂ASがPD発症に大きく関与することが示唆された。

2. 研究の目的

虫垂ASの凝集メカニズム解析を目的として、慢性虫垂炎手術摘出した虫垂26例を用いてAS発現頻度、状態を解析した。さらに、振動変換AS凝集性assay (QuIC assay)を行ない炎症、脂質、AS発現、年齢が虫垂AS凝集力に関与しているか検討した。

3. 研究の方法

虫垂検体ホモジネートの調製

本研究は順天堂大学医学部研究等倫理委員会 で承認されている(倫理 21-088 号)。本研究で用いた虫垂検体は順天堂大学医学部上部消化器外科学講座折田創前任准教授らが同意を得た虫垂炎患者26症例から外科的に摘出した虫垂を用いた。ホモジネート方法は虫垂検体を細断・粉砕して可溶性画分を得た。

虫垂の炎症度合いの病理学的判定

順天堂大学医学部人体病理病態学講座の佐伯春美准教授にご協力いただき、虫垂炎患者26例中19例の虫垂の炎症度合い(線維化割合、虫垂壁の厚さ)を評価していただいた。

脂質除去処理法

メタノール/クロロホルム法を用いて脂質除去処理を行なった。脂質とAS凝集性の相関関係を検討した。

培養細胞

ASのpositive controlとして結腸線がん細胞株Caco-2、negative controlとして膵がん細胞株KP-1、PK-45Hを培養し、細胞ライセートを調製した。

ウェスタンブロット法(WB法)

WB法を用いて虫垂ASの発現量を確認した。

振動変換AS凝集性assay (QuIC assay)

QuIC assayは共同研究者である順天堂大学医学部脳神経学講座の奥住文美准教授、波田野琢准教授、服部信孝教授らが2023年にNature Medicineに投稿した凝集性Assay (IP/RT-QuIC)^[2]を参考にアッセイを作成した。

相関解析

本実験で行なった有意差検定(student t-tast)、相関解析(PEARSON 関数)の統計解析は Microsoft 社の Excel を用いてデータ解析を行なった。

4 . 研究成果

WB 法による虫垂 AS 発現を確認したところ、多くの症例で、脂質による泳動の乱れを推定したので脂質除去処理を行ったところ、バンドが明確になり AS の発現量を正確に捉えられることができた。虫垂炎患者 26 症例すべてに AS モノマーが存在していることを見出した。さらに、切断型 AS モノマーが 26 症例中 20 症例で存在していることも確認した。QuIC assay を用いて脂質除去処理前の虫垂ホモジネート溶液に含まれる AS の凝集性を確認したところ、脂質除去(+)は脂質除去(-)に比べて高分子 AS オリゴマーの増加割合が低下することを見出した。脂質除去(-)と脂質除去(+))のそれぞれの AS 凝集性の結果と虫垂炎症度合い、年齢の相関解析を行なった。その結果、脂質除去 (-)では、虫垂 AS 凝集力と年齢で相関関係があり、PD 発症とは無縁と言われる 20 代の若年齢で AS 凝集性が高いことを見出した。脂質除去(+))では、虫垂炎症の指標である虫垂壁の厚さが虫垂 AS 凝集力と相関関係があることを見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamauchi Suguru, Kanda Satoshi, Yoshimoto Yutaro, Kubota Akira, Tsuda Kenki, Yube Yukinori, Kaji Sanae, Oka Shinichi, Orita Hajime, Brock Malcolm V., Mine Shinji, Fukunaga Tetsu	4. 巻 37
2. 論文標題 Double stapling technique versus hemi-double stapling technique for esophagojejunostomy with OrViI after laparoscopic total gastrectomy: a single-blind, randomized clinical trial	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgical Endoscopy	6. 最初と最後の頁 5931 ~ 5942
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-023-10068-z	査読の有無 無
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 Honjo Sarah, Yamauchi Suguru, Yoshimoto Yutaro, Jun Chen, Egawa Hiroki, Kubota Akira, Tsuda Kenki, Yube Yukinori, Kaji Sanae, Orita Hajime, Fukunaga Tetsu	4. 巻 9
2. 論文標題 A vanished gastric gastrointestinal stromal tumor	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgical Case Reports	6. 最初と最後の頁 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40792-023-01674-z	査読の有無 無
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 Jun Chen, Yamauchi Suguru, Yube Yukinori, Egawa Hiroki, Yoshimoto Yutaro, Kubota Akira, Tsuda Kenki, Kaji Sanae, Orita Hajime, Oka Shinichi, Mine Shinji, Fukunaga Tetsu	4. 巻 9
2. 論文標題 Pathological complete response with nivolumab for recurrence of liver metastasis after gastrectomy of gastric cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgical Case Reports	6. 最初と最後の頁 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40792-023-01668-x	査読の有無 無
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 Matsui Ryota, Rifu Kazuma, Watanabe Jun, Inaki Noriyuki, Fukunaga Tetsu	4. 巻 42
2. 論文標題 Impact of malnutrition as defined by the GLIM criteria on treatment outcomes in patients with cancer: A systematic review and meta-analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical Nutrition	6. 最初と最後の頁 615 ~ 624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clnu.2023.02.019	査読の有無 無
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 Wang Qing、Mine Shinji、Nasu Motomi、Fukunaga Tetsu、Nojiri Shuko、Zhang Chun-Dong	4. 巻 10
2. 論文標題 Association of hospital volume and long-term survival after esophagectomy: A systematic review and meta-analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Surgery	6. 最初と最後の頁 1161938
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fsurg.2023.1161938	査読の有無 無
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0件

〔図書〕 計0件

〔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	李 賢哲 (Le Kentetsu) (30758321)	順天堂大学・医学部・准教授 (32620)	
研究分担者	小林 敏之 (Kobayashi Tohiyuki) (40260070)	公益財団法人環境科学技術研究所・生物影響研究部・研究部長 (81103)	
研究分担者	折田 創 (Orita Hajime) (50465069)	順天堂大学・医学部・先任准教授 (32620)	
研究分担者	波田野 琢 (Hatano Taku) (60338390)	順天堂大学・大学院医学研究科・准教授 (32620)	

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
---------	---------