

令和 6 年 5 月 6 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19512

研究課題名（和文）パーキンソン病発症起点としてのmicrobiome-gut関連機構の解明

研究課題名（英文）Research on microbiome-gut axis in initial pathogenesis of Parkinson's disease

研究代表者

斉木 臣二（Saiki, Shinji）

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：00339996

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：パーキンソン病（PD）の全症例に共通して認められる病理学的所見は alpha-synuclein（aSyn）を主成分とする黒質神経細胞封入体Lewy小体である。病初期からaSynは嗅神経や消化管迷走神経終末に沈着し、軸索に沿って中枢神経内を伝播することで症状が進展する。しかしaSyn沈着の起端に腸管炎症の関与が示唆されているものの、その分子機構は不明である。本研究ではこの「PD発症原因と考えられる腸管神経終末のaSyn沈着が如何なる腸内細菌変化によるのか」を明らかにすることに挑んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2年間の研究期間中である、2023年1月1日に研究代表者は順天堂大学大学院医学研究科から筑波大学医学医療系に異動した。そのため、筑波大学にて改めて特定臨床研究の申請手続きを実施している。当初の予定通り、パーキンソン病・健常者の末梢血液サンプル・糞便サンプルなどの集積を進めた。現在血漿・糞便メタボローム解析データ、ショットガンメタゲノム解析データの統合的解析を進めている。これらにより、PD初期病変の起点となる細菌叢変化を同定し、ノトバイオームマウスでの解析に進む予定である。

研究成果の概要（英文）：The pathological finding common to all cases of Parkinson's disease (PD) is Lewy bodies, which are intracellular inclusions primarily composed of alpha-synuclein (aSyn) in substantia nigra neurons. From the early stages of the disease, aSyn deposits in the olfactory nerves and enteric nervous system terminals, propagating along axons within the central nervous system. Although the involvement of intestinal inflammation has been suggested as the initial trigger for aSyn deposition, the molecular mechanisms remain unclear. This study aimed to elucidate how the deposition of aSyn in enteric nerve terminals, which is considered a cause of PD onset, is influenced by changes in gut microbiota. Initially, a reverse analysis method was employed to identify metabolite changes directly associated with aSyn pathology through fecal metabolome analysis and to elucidate the causative bacteria.

研究分野：神経内科学

キーワード：パーキンソン病 腸内細菌叢

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病 (PD) の症状は先述のように運動症状、非運動症状に大別され、非運動症状として自律神経障害に基づく諸症状が 90% 以上の症例に認められる。中でも起立性調節障害 (40%)、胃膨満感・便秘 (90%) は病理学的にそれぞれ心臓交感節後線維終末の脱落・ α Syn 沈着 (*Brain* 131:642, 2008)、消化管迷走神経終末の減少・ α Syn 沈着 (*Acta Neuropathol* 76:217, 1988; *J Neuropath Exp Neurol* 77:793, 2018) に裏打ちされており、PD での自律神経機能異常は病態生理に基づく中核症状と認識されている。また、疫学的に胃十二指腸潰瘍による胃切除に伴う迷走神経切除術施行患者 (肝枝・腹腔枝も切除) 及び虫垂炎による虫垂切除術患者では、有意に PD 発症率が抑制されることから、自律神経機能異常は PD 発症そのものにも深く関与する (*Neurology* 88:1996, 2017; *Sci Transl Med* 10:eaar5280, 2018)。

応募者は自律神経障害の影響をヒト PD の時系列を組み込んだ多階層オミックス解析 (血漿・血清メタボローム・エクソソーム・トランスクリプトーム等) により、自律神経機能異常に起因するシステム間コーディネーション不和状態を明らかにした (*J Neurol Neurosurg Psychiatry* 87:295, 2016; *Sci Rep* 7:7328, 2017; *Neurology* 90:e404, 2018; *Sci Data* 6:20, 2019; *Ann Neurol* 86:251, 2019; *Mov Disord* 35:1438, 2020; *Sci Rep* 11:18550, 2021)。これらの広汎な PD 自律神経機能異常の中で、発症起点に直結し、かつ治療介入しやすいという点から消化管迷走神経の α Syn 沈着病理が最重要ではないかという着想に至った。さらに、種々の交絡因子 (食餌・人種・性別・内服薬) を除外した上でも、PD 患者共通の腸内細菌叢変化が認められること (*Mov Disord* 35:1626, 2020)、PD マウスモデルにおいて腸内細菌由来代謝産物の変化が脳内炎症に直結することも (*Cell* 167:1469, 2016) この着想を支持する。20 以上の独立した PD 患者マイクロバイーム解析の既報では PD 病理の原因菌が特定されていない現状を踏まえ、本研究ではマイクロバイーム解析に加え、糞便網羅的メタボローム解析を同時に実施する。実例として、腸内酪酸の減少から、その主な産生菌である *Blautia* 属の低下が結論されるように、特定の腸内代謝産物変化から原因菌を推定する手法が確立されているため、本研究ではこれを採用する。さらに分担者松本と共に、ヒトで特定された腸内細菌種変化が真の疾患病態であることを証明するためのノトバイオームマウスの整備を完了しており、確固たるエビデンスを得られる基盤が整ったと判断し、本課題に応募する。

2. 研究の目的

パーキンソン病 (PD) は運動症状、精神症状、及び多彩な自律神経症状を呈する全身疾患であり、その原因として主に黒質ドパミン神経細胞や自律神経細胞障害が想定されている。本研究では、自律神経から中枢神経に alpha-synuclein (α Syn) 病理が伝播とするという Braak 仮説に則り、腸管迷走神経終末での α Syn 沈着を最初期病変と捉え、「この発端となる病理変化が如何なる腸内細菌叢変化によるのか」を明らかにすることに挑戦する。まず均一な PD 患者群での糞便代謝産物変化、腸内細菌叢変化、及び腸管粘膜 α Syn 沈着の重症度を捉える。この α Syn

重症度に直結する糞便代謝産物(群)を特定し、それを産生する原因菌を明らかにする。その原因菌を導入したノトバイオートマウスで病態再現性を検証し、因果律を確認する。本研究により、PD 発症機序を「治療介入しやすい腸内細菌叢変化」に落とし込むことが可能となり、簡便かつ病態に即した疾患修飾療法の開発に結びつくと考えられる。

3 . 研究の方法

本研究では、I. PD 臨床研究により、病理学的解析・生化学的解析・ α Syn 分解に深く関与するオートファジー活性解析を実施し、 α Syn 病理と強い相関を持つ腸管内代謝産物変化を特定し、その代謝産物を産生する「原因菌」を同定する。次に、II のノトバイオートマウスによる検証実験を行い、原因菌の役割を確認する。2023 年 1 月に研究代表者斉木が現施設（筑波大学医学医療系神経内科学）に異動したため、改めて特定臨床研究の倫理委員会申請、糞便サンプル保存用フリーザーの準備、血液サンプル保存用フリーザーの準備を行う必要があったため、2023 年 1 月～12 月までその準備に要した。2024 年 1 月以降に改めて、下記の II の研究を継続する予定である。

I. PD 臨床研究(2022 年 4 月～2023 年 3 月)

PD 患者 30 例（男性・40-60 歳・発症 3 年以内・炎症性疾患/腫瘍性疾患の罹患無し）、健常者 10 例（男性・40-60 歳）を対象とする。4 日間の入院で食餌内容を統一し、腸内細菌叢（ショットガンメタゲノム解析）、糞便代謝産物変化、腸管粘膜 α Syn 沈着/オートファジー活性、腸管神経終末密度、大腸容積（腹部 CT による）を行い、腸内環境を隈無く評価する。これらのデータを用いて α Syn 沈着に關与する腸管内化合物変化を捉え、それらを産生する原因菌(群)を特定する。続発する脳機能への遠隔効果を評価すべく、決断分析・前頭葉機能・認知機能・ドパミントランスポーター・脳 MRI（メラニンイメージング）も入院期間に実施する。

II. ノトバイオートマウス研究(2023 年 4 月～2024 年 3 月)

PD 特異的な代謝産物を産生する原因菌、及びそれを産生する遺伝子を欠損させた KO 株を作製し、それぞれのノトバイオートマウスを作製して評価する（方法は *Nat Commun* 12:2105, 2021 に準ずる）。本マウスに① α Syn の食餌内摂取（1 mg/g/day）② α Syn 腹腔内投与（ α Syn 50mg/100ml PBS を 6 週間留置）をそれぞれ実施し、その沈着状況を病理学的に評価する。さらにヒト糞便・血漿代謝産物と同様の変化が生じているかを、メタボローム解析で検証する。

・研究体制： 応募者は外来フォロー中の約 400 名の PD 患者から本研究登録を行い、臨床評価・生化学的解析を行う。分担者松本光晴（協同乳業主幹研究員、早大客員教授）はノトバイオートマウス研究の実績を活かし、マウス作製・メタゲノム解析を担当する。消化器内科医であり腸内細菌叢・便移植療法研究の国内第一人者である石川大は、ヒト PD サンプルの腸内細菌叢変化・病理解析を担当する。更に大脳機能への遠隔効果の適切な評価のため、神経心理学・放射線医学を専門とする小林俊輔、鎌形康司が参画する。本研究体制により、腸内細菌から脳機能変化までを一貫して洞見することが可能となる。

4 . 研究成果

2年間の研究期間中である、2023年1月1日に研究代表者は順天堂大学大学院医学研究科から筑波大学医学医療系に異動した。そのため、筑波大学にて改めて特定臨床研究の申請手続きを実施している。

当初の予定通り、パーキンソン病・健常者の末梢血液サンプル・糞便サンプルなどの集積を進めた。現在血漿・糞便メタボローム解析データ、ショットガンメタゲノム解析データの統合的解析を進めている。これらにより、PD初期病変の起点となる細菌叢変化を同定し、ノトバイオートマウスでの解析に進む予定である。

採択後の他グループからの研究発表では、PDの前駆期と考えられるレム睡眠行動障害（RBD）患者における腸内細菌叢変化の報告があった（*Nat Commun* 14:2501, 2023）。RBD患者では、PDに表現型が変化する前から、すでに腸内細菌叢がPDに近い形に変化しており、特に *Roseburia* の減少、*Faecalibacterium* の減少、*Akkermansia* の増加が認められると報告している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Miyamoto Kengo, Saiki Shinji, Matsumoto Hiroataka, Suzuki Ayami, Yamashita Yuri, Iseki Tatou, Ueno Shin Ichi, Shiina Kenta, Kataura Tetsushi, Kamagata Koji, Imamichi Yoko, Sasazawa Yukiko, Fujimaki Motoki, Akamatsu Wado, Hattori Nobutaka	4. 巻 93
2. 論文標題 Systemic Metabolic Alteration Dependent on the Thyroid Liver Axis in Early PD	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Annals of Neurology	6. 最初と最後の頁 303 ~ 316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ana.26510	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 Sasazawa Yukiko, Souma Sanae, Furuya Norihiko, Miura Yoshiki, Kazuno Saiko, Kakuta Soichiro, Suzuki Ayami, Hashimoto Ryota, Hirawake Mogi Hiroko, Date Yuki, Imoto Masaya, Ueno Takashi, Kataura Tetsushi, Korolchuk Viktor I, Tsunemi Taiji, Hattori Nobutaka, Saiki Shinji	4. 巻 41
2. 論文標題 Oxidative stress induced phosphorylation of JIP4 regulates lysosomal positioning in coordination with TRPML1 and ALG2	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e111476
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2022111476	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

筑波大学神経内科研究紹介ページ https://neurology.md.tsukuba.ac.jp/research/
--

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	小林 俊輔 (Kobayashi Shunsuke) (30579272)	帝京大学・医学部・教授 (32643)	
研究分担者	石川 大 (Ishikawa Dai) (30622675)	順天堂大学・医学部・准教授 (32620)	
研究分担者	松本 光晴 (Matsumoto Mitsuharu) (50505972)	協同乳業株式会社研究所・研究所・主幹研究員 (92648)	
研究分担者	鎌形 康司 (Kamagata Koji) (60568153)	順天堂大学・医学部・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