

令和元年6月25日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09711

研究課題名(和文) シヌクレイノパチー患者における腸内細菌バイオマーカーの解析

研究課題名(英文) A study of association between enteric bacteria markers and patients with synucleinopathy

研究代表者

小澤 鉄太郎 (Ozawa, Tetsutaro)

新潟大学・医歯学総合病院・特任教授

研究者番号：10377153

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、早期パーキンソン病の嗅覚低下と便秘を含めた消化器症状の重症度に口腔微生物を含む腸内細菌が関与するかどうかを評価した。早期パーキンソン病患者35例と神経変性疾患を有しないコントロール14例において評価した。パーキンソン病患者ではコントロールと比較し嗅覚低下と消化器症状は明らかに重度であった。胃のピロリ菌感染率は両者の間に有意差はなかった。消化器症状の重症度と口腔内微生物が発する硫化水素濃度との相関は見られなかった。一方、早期パーキンソン病患者の嗅覚低下と口腔内硫化水素濃度とが明らかに相関し、口腔微生物による代謝産物が早期パーキンソン病の嗅神経障害に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パーキンソン病の前駆症状として、嗅覚低下と便秘を含めた消化管機能障害が知られている。本研究では、パーキンソン病の嗅覚低下に口腔微生物により産生された硫化水素がPDの嗅神経障害に関与している可能性が示唆された。硫化水素は高濃度であれば短時間で嗅神経を障害することが知られている。本研究で検出した口腔内の硫化水素は低濃度ではあるが、硫化水素を発する口腔微生物の生息は患者の生活史の大部分におよぶ可能性があり、患者の嗅神経は低濃度硫化水素に長期間曝露された可能性がある。今後は嗅神経における低濃度硫化水素の長期曝露の影響をさらに検討する必要がある。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to determine whether olfactory disturbance and gastrointestinal symptoms of early stage of Parkinson's disease (PD) were associated with metabolites from enterobacterial flora including oral bacteria. Thirty-five patients with early stage of PD and fourteen age-matched control subjects who had no neurodegenerative diseases were participated in this study. The olfactory disturbance and gastrointestinal symptoms in PD patients were more severe than those in controls. Rate of *Helicobacter pylori* infection was not different between the two groups. The severity of gastrointestinal symptom was not correlated with breath concentration of hydrogen sulfide that was produced by oral bacteria. In early stage of PD, the severity of olfactory disturbance was significantly correlated with the breath concentration of hydrogen sulfide. Our results suggest that pathogenic mechanism of olfactory disturbance in PD patients is associated with metabolites from oral bacteria.

研究分野：神経内科

キーワード：シヌクレイノパチー パーキンソン病 嗅覚低下 口腔微生物 腸内細菌 硫化水素 自律神経障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病 (PD)、レヴィ小体型認知症 (DLB) そして多系統萎縮症 (MSA) は、リン酸化アルファシヌクレイン蛋白が神経系に蓄積する疾患であり「シヌクレイノパチー」と総称される。PD と DLB では、リン酸化アルファシヌクレイン蛋白はレヴィ小体として蓄積される。Braak らは、レヴィ小体の中枢神経系における進展様式を検討し、嗅球あるいは迷走神経背側核周辺を起点とし、徐々に中枢神経系に広がるとする仮説 (Braak 仮説) [1] を提唱した。その後、胎児の黒質組織を移植されたパーキンソン病患者の剖検にて、移植片の黒質神経細胞にレヴィ小体の出現を認めたとする報告が複数なされ、病原性のリン酸化アルファシヌクレイン蛋白は組織から組織へ伝播する可能性が強く示唆された [2]。シヌクレイノパチーの実験系においても、病原性のリン酸化アルファシヌクレインが隣接する細胞間で伝播する現象が見出されている。すなわち、シヌクレイノパチーでは、嗅球や迷走神経背側核周辺で蓄積した病原性リン酸化アルファシヌクレイン蛋白が、より中枢の方向へ細胞間伝播している可能性が提起される。

病原性リン酸化アルファシヌクレイン蛋白の伝播が嗅神経あるいは迷走神経の最も末梢側に端を発する可能性についても議論されている。臨床的には、嗅覚低下と便秘はパーキンソン病の前駆症状の一部であり [3]、パーキンソン病の病態が嗅上皮あるいはから消化管の神経系から始まる可能性が提起される。この仮説を証明するためには、嗅上皮や消化管神経系の病態発現にどのような環境因子が作用するかを解明する必要がある。

### 2. 研究の目的

シヌクレイノパチー発症の原因と考えられる嗅上皮や消化管における神経障害には、口腔微生物を含めた腸内細菌が関与していることを非侵襲的な呼気ガス分析を用いて明らかにする。

### 3. 研究の方法

早期 PD 患者 35 例 (男 : 女 = 9:13、平均年齢 70.5 歳、平均罹病期間 3.6 年)、神経変性疾患を有しないコントロール 14 例 (男 : 女 = 5:9、平均年齢 75.2 歳) において、自覚的消化器症状の重症度評価、嗅覚機能検査、胃ピロリ菌感染検査、口腔微生物産生ガス分析を行った。

自覚的消化器症状の重症度は、自律神経症状の質問票 (scale for outcomes in Parkinson's disease-autonomic=SCOPA-AUT) [4] 中の消化器症状に関する 7 つの質問への回答を点数化することによって評価した。質問の回答方法は、全くない (0 点)、時々ある (1 点)、普通にある (2 点)、よくある (3 点) の 4 択であり、7 つの質問への回答が最も重症であれば合計点が 21 点となるシステムである。

嗅覚機能検査は、スティック型嗅覚検査法 (odor stick identification test for Japanese = OSIT-J) を用いて行った。検査の手順は以下の通りである。冷蔵保存した臭いスティックを検査の 1 時間前に冷蔵庫から取り出し、1) スティックのキャップを外し先端を出す。2) 長方形の薬包紙 (5.25cm×10.5cm) の片側内面中央部にある直径約 2 cm の円内全体に、スティックを塗布する (5 回程度円を描くように円内を塗りつぶす)。3) スティックを塗布した部分を内側にして二つ折りにする。4) 薬包紙の臭い提示試料の円部分を親指と人指し指で挟み、円をすりつぶすように 5 回程度すり合わせてから開き、被験者に嗅いでもらう。5) 被測定者は感じた臭いを 4 つの選択肢の中から選んで回答する (4 つの中か

らどうしても選べない場合には「分からない」、無臭であると感じた場合には「無臭」と回答する)。この1)～5)の手順を12種類の臭いスティックで繰り返した。

胃ピロリ菌感染の有無は<sup>13</sup>C-尿素呼気試験にて評価した。ヘリコバクターピロリは胃内で増殖するらせん状のグラム陰性菌で、尿素を代謝しCO<sub>2</sub>を産生する。このCO<sub>2</sub>は胃粘膜から吸収され呼気中に出現する。<sup>13</sup>C-尿素呼気試験とは、このヘリコバクターピロリが胃内で産生したCO<sub>2</sub>が呼気中に出現することを利用し、被験者が<sup>13</sup>Cで標識された尿素(ユービット<sup>®</sup>)を服用前と服用20分後に呼気を採取し、その呼気中の標識CO<sub>2</sub>を赤外分光分析装置(POCone<sup>®</sup>)で測定する方法である。ユービット<sup>®</sup>服用後呼気中<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>とユービット<sup>®</sup>服用前呼気中<sup>12</sup>CO<sub>2</sub>の比(<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub>比)を測定し、その変化量(Δ<sup>13</sup>C)が2.5%以上の場合をヘリコバクターピロリ陽性と判定した。

口腔微生物産生ガス分析は、口腔微生物によって産生された硫化水素とメチルメルカプタン濃度を半導体ガスセンサーによる簡易ガスクロマトグラフィー(OralChroma<sup>®</sup>)を用いて行った。口腔内気体の採取方法は、まず1mlのディスプレイシリンジを被験者に前歯で銜てもらい、口唇を閉じ1分間鼻で静かに呼吸するよう命じ、1分経過後にシリンジ内に1mlの気体を吸引し採取した。その採取した口腔内の気体をOralChroma<sup>®</sup>の半導体ガスセンサーに注入し、硫化水素とメチルメルカプタン濃度を測定した。これらのデータをPD患者群とコントロール群の間で比較し、PD患者の嗅覚機能低下と相関する因子、ならびに自覚的消化器症状の重症度と相関する因子の探索を行った。

研究の実施に当たっては新潟大学医学部倫理委員会の承認を経て、被験者より書面での同意を得た。

#### 4. 研究成果

本研究では、非侵襲的で手技的にも簡便な呼気ガス分析でのアプローチを選択しており、安全に多数例での検討が可能だった。本研究の遂行中に有害事象は無かった。

<sup>13</sup>C-尿素呼気試験ではPD35例中10例(28.5%)で胃のピロリ菌感染を認めた。コントロールにおける胃のピロリ菌感染は14例中5例(35.7%)であり、PDでのピロリ菌感染率の上昇は認めなかった。SCOPA-AUT消化器症状の点数の平均は、PD群では4.0点、コントロール群では1.5点であり、明らかにPD群の自覚的な消化器症状は重度であった。

OSIT-Jを用いた嗅覚機能検査では、PD35例の平均値は3.6点(12点満点)、コントロールでは6.2点であり、PD患者の嗅覚低下は明らかだった。

口腔微生物産生ガス分析の結果については、PDでの口腔内の硫化水素とメチルメルカプタン濃度の平均値はそれぞれ、128.3ppb、176.7ppbであった。コントロールではそれぞれ、83.1ppb、31.7ppbであった。PD患者におけるSCOPA-AUT消化器症状の点数と口腔内の硫化水素またはメチルメルカプタン濃度との相関は認められなかった。PDにおける嗅覚低下と口腔内のメチルメルカプタン濃度との相関は見られなかったが、一方で、PDの嗅覚低下と口腔内の硫化水素濃度とが明らかに相関した。この結果から、口腔微生物により産生された硫化水素がPDの嗅神経障害に関与している可能性が示唆された。

パーキンソン病の前駆症状として、嗅覚低下と便秘を含めた消化管機能障害が知られている[3]。本研究では、パーキンソン病の嗅覚低下に口腔微生物により産生された硫化水素がPDの嗅神経障害に関与している可能性が示唆された。硫化水素は高濃度であれば短時間で嗅神経を障害することが知られている[5]。本研究で検出した口腔内の硫化水素は低濃度ではあるが、硫化水素を発する口腔微生物の生息は患者の生活史の大部分におよぶ可能

性があり、患者の嗅神経は低濃度硫化水素に長期間曝露された可能性がある。今後は嗅神経における低濃度硫化水素の長期曝露の影響をさらに検討する必要がある。

#### 引用文献

- [1] Braak H, Del Tredici K, Rüb U, et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197-211.
- [2] Li JY, Englund E, Holton JL, et al. Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nat Med* 2008;14(5):501-3.
- [3] Postuma RB, Berg D. Prodromal Parkinson's Disease: The Decade Past, the Decade to Come. *Mov Disord*. 2019;34(5):665-75.
- [4] Visser M, Marinus J, Stiggelbout AM, Van Hilten JJ. Assessment of autonomic dysfunction in Parkinson's disease: the SCOPA-AUT. *Mov Disord* 2004;19(11):1306-12.
- [5] Guidotti TL. Hydrogen sulfide intoxication. *Handb Clin Neurol*.2015;131:111-33.

#### 5 . 主な発表論文等

##### 〔雑誌論文〕(計1件)

小澤 鉄太郎. 消化器と自律神経 神経変性疾患の自律神経障害における消化管ホルモン. *自律神経*、査読有、55 巻、2018 年、292-294.

##### 〔学会発表〕(計1件)

小澤 鉄太郎. 神経変性疾患の自律神経障害における消化管ホルモン. 第71回日本自律神経学会総会. 2018 年.

##### 〔図書〕(計2件)

小澤 鉄太郎 他. 医学書院、今日の治療指針 2018 15 神経・筋疾患 自律神経障害 (多系統萎縮症を含む). 2018 年、935-936.

小澤 鉄太郎 他. 中外医学社、神経・精神疾患による消化管障害ベッドサイドマニュアル 脳性麻痺と消化器障害、帯状疱疹・単純性疱疹、2019 年、281-284、330-332.

#### 6 . 研究組織

(1)研究分担者  
なし

(2)研究協力者  
研究協力者氏名：西澤 正豊  
ローマ字氏名：(NISHIZAWA masatoyo)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。