

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07452

研究課題名(和文) 準境界型ニューロパチーという新疾患概念の提唱と病態に基づく超早期診断法の確立

研究課題名(英文) Proposal of pre-borderline neuropathy as a new disease entity and construction of novel ultra-early diagnosis methods for detecting the disease

研究代表者

大林 光念 (Obayashi, Konen)

熊本大学・大学院生命科学研究部(保)・教授

研究者番号：90361899

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)：耐糖能異常ニューロパチーにおける neuronの種類による障害度の差についての検討、発症への酸化ストレスの関与についての検討、準境界型ニューロパチーの出現頻度に関する検討、発症への中枢神経系の関与についての検討、を行った。耐糖能異常患者における表皮内のadrenergic neuronは汗腺周囲のcholinergic neuronより密度減少率が高かった。また、血中の酸化度/抗酸化力と小径線維の障害度には相関がみられた( $p=0.79$ ,  $r<0.05$ )。さらに、準境界型患者全体に占めるニューロパチーの出現頻度は21.3%だった。耐糖能異常ニューロパチーと脊髄後角、視床との関係も示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって得られた、耐糖能異常ニューロパチーにおける adrenergic neuronとcholinergic neuronとの障害度の差についてのデータ、発症への酸化ストレスの関与についてのデータ、発症への中枢神経系の関与についてのデータ、および準境界型ニューロパチーと称すべき病態に関する出現頻度のデータが、今後「耐糖能異常患者に出現する小径線維ニューロパチーの超早期診断法の確立」、「point of no returnを意識した薬物療法の至適開始時期同定」、そして「耐糖能異常患者における小径線維ニューロパチーの発症機序の一部解明」に結びつく可能性は極めて高い。

研究成果の概要(英文)：It is well known that is characterized by early selective involvement of small nerve fibers. We studied the difference in degree of disability depending on the type of neuron, involvement of oxidative stress in the onset, frequency, and involvement of the central nervous system in the onset in impaired glucose tolerance neuropathy. The density reduction rate of adrenergic neuron in epidermis was higher than that of cholinergic neuron around sweat glands. In addition, there was a correlation between the serum oxidizing power/antioxidant power ratio and the degree of small-fiber neuropathy ( $p=0.79$ ,  $r<0.05$ ). The frequency of neuropathy was 21.3% of all impaired glucose tolerance patients. Moreover, a relationship between impaired glucose tolerance neuropathy and the thalamus and posterior horn of the spinal cord was suggested.

研究分野：臨床検査医学、脳神経内科学

キーワード：耐糖能異常ニューロパチー 準境界型ニューロパチー

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

耐糖能異常患者において、最も早期から高頻度に出現する病態が「小径線維ニューロパチー」である。即ち、本病態をいかに超早期に発見し、障害が可逆的な時期に治療を開始するかが、耐糖能異常・糖尿病の研究・診療において最重要かつ喫緊の課題の一つといえる。本課題に対応すべく、申請者らは過去3年間、基盤研究(C)で「キュレーションと翻訳後修飾を鍵とした IGT ニューロパチーの早期診断法の考案」に努め、「尿中ミオイノシトール+A 線維特異的痛覚閾値+血管運動神経機能(=C 線維機能)の評価」を核とした耐糖能異常ニューロパチーの早期診断法を一旦樹立した。しかし同時に、本症に関する耐糖能異常に伴う小径線維については、神経伝達物質から見た線維種によって障害度・障害時期の差があるのでは？リン酸化や糖化をターゲットとした翻訳後修飾に関する病理学的・生化学的検討の結果、耐糖能異常ニューロパチーの発症には「酸化ストレス」の関与がより強いのでは？耐糖能異常に伴うニューロパチーにおいては臨床症状の出現、進行に中枢神経系が関与している可能性が高いのでは？我々が考案した尿中ミオイノシトール+A 線維特異的痛覚閾値+血管運動神経機能(=C 線維機能)の評価から、準境界型(75g-OGTT 後1時間での血糖値が180 mg/dL 以上)の患者の一部でも小径線維障害が存在する(=「準境界型ニューロパチー」という新たな疾患概念を提唱できる)のでは？、という4つの新たな問いもまた芽生えた。本研究では、これら4つの問いに答えるべく、先に樹立した診断法に「自律神経の線維種別」、「中枢神経系」、「酸化ストレス」の3視点から新たな検査を加え、「より精度の高い耐糖能異常ニューロパチーの超早期診断法、進行度判定法を確立する」とともに、その成因に迫りつつ、「準境界型ニューロパチー」という新たな疾患概念も確立したいと考えた。

### 2. 研究の目的

上記1.で述べた4つの問いを解決すべく、今回申請者らは、従来自身らで取り組んできた基盤研究(C)の内容を更に発展させる形で継続したいと考えた。具体的には、従来の single center study から、「こころとからだの元氣プラザ」(東京都)や国立水俣病総合研究センター(熊本県)との多施設共同研究という形に変えることで、検討対象患者数や検査項目をこれまで以上に増やし、耐糖能異常ニューロパチーにおける adrenergic neuron と cholinergic neuron との障害度の差について、発症への酸化ストレスの関与について、発症への中枢神経系の関与について、準境界型ニューロパチーと称すべき病態に関する出現頻度、を新たに検討することによって、「耐糖能異常患者に出現する小径線維ニューロパチーの定量的超早期診断法・進行度判定法の確立」、「point of no return を意識した薬物療法の至適開始時期の同定」、「準境界型ニューロパチーという新疾患概念の確立」、そしてその先に見えてくる「耐糖能異常患者における小径線維ニューロパチーの発症機序解明」を目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1) adrenergic neuron と cholinergic neuron の障害度の比較

申請者らが過去蓄積してきた耐糖能異常患者76名分の生検皮膚組織を用い、耐糖能異常患者における表皮内の adrenergic neuron と汗腺周囲の cholinergic neuron との密度減少率の差(=障害度の差)を、age matching した健常者40例分のデータと比較することによって検討する。(本検討に用いる手法)

免疫蛍光染色法。adrenergic neuron については抗 protein gene product (PGP)9.5 抗体+抗 norepinephrine transporter (NET) 抗体の二重染色を、cholinergic neuron については抗 PGP9.5 抗体+抗コリントランスポーター (ChT) or 抗小胞アセチルコリントランスポーター (VAChT) 抗体の二重染色を行う。

#### (2) 中枢神経系の検査、評価

耐糖能異常と診断された患者のうち、国立水俣病総合研究センターでの検査が可能な熊本県在住の40例程度を対象に、下記の検査、検討を行う。

##### MEG+MRI

通常の大径線維を評価する電気刺激(=A 刺激)と小径神経選択電気刺激(=A 刺激)での脳電気活動の違いを MEG と MRI を用いて評価し、脳機能マップを作成することによって、小径線維障害に関連した脳機能領域を同定する。

##### rs-fMRI

耐糖能異常患者における安静状態での小径線維障害と脳機能ネットワークの関連を調べる。

#### (3) 酸化ストレス(酸化度/抗酸化力)の検査

耐糖能異常と診断された患者全例を対象に、FREE CARRIO DUO による血清ヒドロペルオキシド値の測定や抗酸化力(血中鉄還元反応)のチェックを行い、これら各々の値や、そこから算出される「酸化度/抗酸化力」と尿中ミオイノシトール+A 線維特異的痛覚閾値+血管運動神経機能(=C 線維機能)の評価から見た小径線維の障害度との相関について検討する。

#### (4) 本研究で得られた成果と既存の検査法を組み合わせた、定量的超早期診断法の確立 耐糖

能異常患者における小径線維ニューロパチーの発症機序の一部解明

積み重ねてきたデータを整理し、耐糖能異常患者における小径線維ニューロパチーの発症機序の一部に迫るとともに、今回の検討で極めて有用と判断された検査法・評価法と、これまでの基盤研究(C)でその有用性を明らかにした尿中ミオイノシトール+A 線維特異的痛覚閾値+血管運動神経機能(=C 線維機能)の評価との組み合わせにより、定量性を持った(スコア化された)耐糖能異常ニューロパチーの超早期診断法・進行度評価法を確立する。

(5) 準境界型ニューロパチーと称すべき病態に関する出現頻度の調査

対象のうち準境界型と診断された患者全例について、(4)で確立した定量性を持った(スコア化された)耐糖能異常ニューロパチーの超早期診断法・進行度評価法を用いてニューロパチーの有無を調査し、その出現頻度を算出する。

#### 4. 研究成果

初年度である 2018 年度には、このうち耐糖能異常ニューロパチーにおける adrenergic neuron と cholinergic neuron との障害度の差についての検討を中心に研究を進めた。具体的には、耐糖能異常患者 76 名分の生検皮膚組織を用い、耐糖能異常患者における表皮内の adrenergic neuron と汗腺周囲の cholinergic neuron との密度減少率の差(=障害度の差)を、age matching した健常者 40 例分のデータと比較したもので、検討の結果、耐糖能異常患者における表皮内の adrenergic neuron は汗腺周囲の cholinergic neuron より早期から密度減少率が高い傾向にあった。

2 年目にあたる 2019 年度、および最終年度である 2020 年度には、耐糖能異常ニューロパチー発症への酸化ストレスの関与についての検討、および耐糖能異常ニューロパチー発症への中枢神経系の関与についての検討を進めた。具体的には、耐糖能異常患者 50 名を対象に、FREE CARRIO DUO による血清ヒドロペルオキシド値の測定や抗酸化力(血中鉄還元反応)のチェックを行い、これら各々の値や、そこから算出される「酸化度/抗酸化力」と尿中ミオイノシトール+A 線維 特異的痛覚閾値+血管運動神経機能(=C 線維機能)の評価から見た小径線維の障害度との相関について検討するとともに、通常の大径線維を評価する電気刺激(=A 刺激)と小径神経選択電気刺激(=A 刺激)での脳電気活動の違いを MEG と MRI を用いて評価し、脳機能マップを作成することによって、小径線維障害に関連した脳機能領域を同定する仕組みを用意した。耐糖能異常患者 50 名を対象に、血中の酸化度/抗酸化力のデータと尿中ミオイノシトール+A 線維特異的痛覚閾値+血管運動神経機能の評価から見た小径線維の障害度との相関について検討した結果、両者には相関がみられた( $p=0.79$ ,  $r<0.05$ )。また、準境界型ニューロパチーの出現頻度調査を行った結果、準境界型患者全体における本症の出現頻度は 21.3%と判明した。一方、残念ながら当初計画していた内容のうち、通常の大径線維を評価する電気刺激(=A 刺激)と小径神経選択電気刺激(=A 刺激)での脳電気活動の違いを MEG と MRI を用いて評価し、脳機能マップを作成しようとする試みは、covid-19 に伴う施設や被験者の自粛規制の影響から、正確なマップを作成しうるデータの蓄積こそ叶わなかったものの、耐糖能異常ニューロパチーと脊髄後角、視床との関係性は示唆された。

#### <引用文献>

Wilkinson MJ, Nathan AG, Huang ES. Personalized decision support in type 2 diabetes mellitus: current evidence and future directions. Curr Diab Rep 2013; 13: 205-212.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Obayashi K, Masuda T, Tasaki M, Ando Y, Ueda M.	4. 巻 26
2. 論文標題 Evaluation of myoelectrical activities of descending colon by electrointestinogram in patients with ATTRm amyloidosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Amyloid	6. 最初と最後の頁 66-66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/13506129.2019.1583184.	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 Obayashi K, Masuda T, Tasaki M, Ando Y, Ueda M.	4. 巻 26
2. 論文標題 Serum diacron-reactive oxygen metabolites (d-ROMs) and biological antioxidant potential (BAP) in patients with ATTR-PN.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Amyloid	6. 最初と最後の頁 65-65
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/13506129.2019.1583183.	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 Tasaki M, Milani P, Foli A, Verga L, Obici L, Basset M, Bozzola M, Ferraro G, Nuvolone M, Morbini P, Capello G, Ueda M, Obayashi K, Paulli M, Ando Y, Merlini G, Palladini G, Lavatelli F.	4. 巻 134
2. 論文標題 Simple, fast, and reliable detection of amyloid deposits in subcutaneous fat aspirates using the fluorescent dye FSB: a prospective study in 206 patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 320-323
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/blood.2019000420.	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 該当する

1. 著者名 Tasaki M, Ueda M, Hoshii Y, Mizukami M, Matsumoto S, Nakamura M, Yamashita T, Ueda A, Misumi Y, Masuda T, Inoue Y, Torikai T, Nomura T, Tsuda Y, Kanenawa K, Isoguchi A, Okada M, Matsui H, Obayashi K, Ando Y.	4. 巻 247
2. 論文標題 A novel age-related venous amyloidosis derived from EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 444-455
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/path.5203.	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 Yamashita T, Ueda M, Nomura T, Okazaki T, Okada M, Tsuda Y, Inoue Y, Masuda T, Misumi Y, Takamatsu K, Obayashi K, Inomata Y, Hibi T, Ando Y.	4. 巻 93
2. 論文標題 Natural history and long-term effects of variant protein reduction in non-V30M ATTR amyloidosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurology	6. 最初と最後の頁 714-716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/WNL.00000000000008320.	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 Tasaki M, Ueda M, Hoshii Y, Mizukami M, Matsumoto S, Nakamura M, Yamashita T, Ueda A, Misumi Y, Masuda T, Inoue Y, Torikai T, Nomura T, Tsuda Y, Kanenawa K, Isoguchi A, Okada M, Matsui H, Obayashi K, Ando Y	4. 巻 247
2. 論文標題 A novel age-related venous amyloidosis derived from EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Pathol	6. 最初と最後の頁 444-455
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5203	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 Masuda T, Ueda M, Kitajima M, Morita K, Misumi Y, Yamashita T, Obayashi K, Yamashita Y, Ando Y	4. 巻 91
2. 論文標題 Teaching NeuroImages: Morphology of lumbosacral dorsal root ganglia and plexus in hereditary transthyretin amyloidosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neurology	6. 最初と最後の頁 e1834-e1835
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/WNL.00000000000006474	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 Murakami T, Noguchi K, Hachiya N, Kametani F, Tasaki M, Nakaba S, Sassa Y, Yamashita T, Obayashi K, Ando Y, Hamamura M, Kanno T, Kawasaki K	4. 巻 27
2. 論文標題 Needle-shaped amyloid deposition in rat mammary gland: evidence of a novel amyloid fibril protein	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Amyloid	6. 最初と最後の頁 25-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13506129.2019.1675623	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 Tasaki M, Okada M, Yanagisawa A, Nomura T, Matsushita H, Ueda A, Inoue Y, Masuda T, Misumi Y, Yamashita T, Nakamura T, Miyamoto T, Obayashi K, Ando Y, Ueda M	4. 巻 28
2. 論文標題 Apolipoprotein AI amyloid deposits in the ligamentum flavum in patients with lumbar spinal canal stenosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Amyloid	6. 最初と最後の頁 107-112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13506129.2020.1858404.	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 Ando Y, Yamashita T, Misumi Y, Nomura T, Sasada K, Okada M, Inoue Y, Masuda T, Ueda A, Takamatsu K, Obayashi K, Matsui H, Naiki H, Ueda M.	4. 巻 8
2. 論文標題 Clinical, pathological, and proteomic characteristics of newly diagnosed amyloidosis patients: Experience from a single referral center in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurol Clin Neurosci	6. 最初と最後の頁 E-pub
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 大林光念	4. 巻 57
2. 論文標題 準境界型ニューロパチーという新疾患概念の提唱と病態に基づく超早期診断法の考案	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 自律神経	6. 最初と最後の頁 172-175
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 安東由喜雄, 増田曜章, 松下博昭, 大林光念, 植田光晴	4. 巻 58
2. 論文標題 ユニークな自律神経障害を呈する疾患: ATTR アミロイドーシス	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 自律神経	6. 最初と最後の頁 12-16
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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 大林光念, 増田曜章, 安東由喜雄
2. 発表標題 準境界型ニューロパチーという新疾患概念の提唱と病態に基づく超早期診断法の確立
3. 学会等名 第72回日本自律神経学会総会（教育講演）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Obayashi K, Masuda T, Yanagisawa Y, Izaki A, Sonoda Y, Tasaki M, Ueda M, Ando Y
2. 発表標題 Serum diacron-reactive oxygen metabolites (d-ROMs) and biological antioxidant potential (BAP) in patients with ATTR-PN
3. 学会等名 The XV International Symposium on Amyloidosis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sonoda Y, Obayashi K, Masuda T, Izaki A, Yanagisawa Y, Tasaki M, Ando Y Ueda M
2. 発表標題 Evaluation of myoelectrical activities of descending colon by electrointestigram in patients with ATTRm amyloidosis
3. 学会等名 The XV International Symposium on Amyloidosis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大林光念, 田畑有梨, 村上華純, 田崎雅義, 増田曜章, 植田光晴
2. 発表標題 経皮の大腸電図指標と血液生化学的指標を組み合わせたATTRvアミロイドーシスの超早期診断
3. 学会等名 第60回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

熊本大学大学院保健学教育部・医学部保健学科  
<http://www.hs.kumamoto-u.ac.jp/>

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	中村 政明  (Nakamura Masaaki)  (50399672)	国立水俣病総合研究センター・その他部局等・部長   (87401)	
研究分担者	増田 曜章  (Masuda Teruaki)  (50464459)	熊本大学・医学部附属病院・助教   (17401)	
研究分担者	田崎 雅義  (Tasaki Masayoshi)  (50613402)	熊本大学・大学院生命科学研究部(保)・助教   (17401)	
研究分担者	植田 光晴  (Ueda Mitsuharu)  (60452885)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授   (17401)	

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