

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 年～2011 年

課題番号：21591109

研究課題名（和文） 消化管神経変性の病態解明：環境に近接する神経系へのアプローチ

研究課題名（英文） Enteric neurodegeneration: an approach to neural system exposed to environments

研究代表者

小澤 鉄太郎（OZAWA TETSUTARO）

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：10377153

研究成果の概要（和文）：本研究では、消化管神経変性の病態を解明するために、パーキンソン病、多系統萎縮症、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症などの神経変性疾患の患者において、消化管蠕動機能の評価（腸音解析）、消化管由来の蠕動調節ホルモン（グレリン）の分泌、並びに消化管神経叢の病理検索を行った。パーキンソン病と多系統萎縮症では腸音発生頻度とアクティブグレリン/総グレリン比の低下が共通して見られ、両疾患では消化管蠕動調節とグレリン分泌に関与する消化管神経機能が障害されている可能性がある。しかし、消化管神経叢の病理検索では、パーキンソン病にはレヴィ小体が見られたものの、多系統萎縮症では異常構造物は認められなかった。今後は、両疾患の消化管神経叢における神経細胞の萎縮や脱落といった変化を評価する必要がある。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the pathogenic mechanism of enteric neurodegeneration in Parkinson's disease (PD) and related disorders, we investigated the frequency of bowel sounds, the state of ghrelin secretion into plasma, and histopathological changes of the enteric nervous system. The results showed that the frequency of bowel sounds and the active ghrelin ratio was significantly lower in patients with PD and multiple system atrophy (MSA) than in control subjects. These observations suggested that enteric nervous system functionally related to gastrointestinal motility and controlling ghrelin secretion was affected in both PD and MSA. Regarding the histopathological changes of the enteric nervous system, Lewy bodies were seen in PD cases; however, there was no alpha-synuclein positive inclusion in the enteric nervous system in MSA cases. Further investigations are needed to determine neurodegenerative changes of the enteric nervous system in PD and MSA cases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：アルファシヌクレイン、シヌクレイノパチー、消化管神経、パーキンソン病、多系統萎縮症、グレリン

1. 研究開始当初の背景
 パーキンソン病 (Parkinson's disease=PD) や多系統萎縮症 (multiple system atrophy=MSA) などの神経変性疾患では、高頻度に消化器症状を伴う。しかし、PD や MSA の消化器症状の発症機構は十分に解明されていない。PD では、消化管の内在性神経 (消化管神経叢) にレヴィ小体が出現することが知られており消化器症状との関連が示唆されるが、その詳細な機序は不明である。PD や MSA の消化器症状の背景にある病態を解明する必要がある。

2. 研究の目的

- (1) PD と MSA を含む神経変性疾患での、消化管蠕動低下を定量的に評価する。
- (2) 神経変性疾患の消化管蠕動低下に関与する、腸-脳軸ホルモンの分泌障害を明らかにする。
- (3) 消化管の内在性神経における組織変化を同定する。

3. 研究の方法

(1) 消化管蠕動低下の定量的評価 (腸音測定)

①対象:

MSA13 例, PD9 例, 疾患対照として年齢を合わせた進行性核上性麻痺と皮質基底核変性症 (PSP/CBD) 9 例, ALS 11 例, 対照 18 例 (健康人 8 例, 非変性疾患 10 例)

②方法:

電子聴診器とデジタルレコーダーによる腸音解析システム (EnteroTachogram Analysis System, Western Research Company, Inc., USA.) を用いた定量的腸音解析を行った。評価に用いた指標は 1 分間に発生する腸音数 (分時腸音数) と全評価時間に占める腸音時間の割合 (%腸音時間) であり、これらを午前中の食間の時間帯 (午前 10 時~11 時) において 10 分間連続測定した。これは腹部聴診と同様の非侵襲的検査であり、電子聴診器を当てる部位は臍の右約 5 cm 外側とした。測定は静粛な個室内で安静仰臥位にて行った。パーキンソン症状を有する MSA 症例, PD および PSP・CBD 症例においては、抗パーキンソン病薬の開始前に評価を行った。統計学的処理は分散分析と Bonferroni の多重比較にて行った。

(2) 腸-脳軸の神経内分泌機能評価

①対象:

血漿グレリン定量を行った症例の臨床像については表 1 にまとめた。合併症として糖尿病、炎症性腸疾患、癌を有する患者は除外した。

②方法:

早朝空腹時に採血して直ちに血漿分離し、得

られた血漿に 1/10 量の 1N HCL を添加し凍結。サンドイッチ ELISA 法 (Ghrelin ELISA Kit, 三菱化学ヤトロン) にて血漿中のアクティブグレリン*とデスアシルグレリン**を定量 { *測定感度: 4 fmol/ml, Intra-assay CVs: 3.5-5.5% (n=5), Inter-assay CVs: 2.6-4.9% (n=3), **測定感度: 14 fmol/ml, Intra-assay CVs: 2.1-4.7% (n=5), Inter-assay CVs: 4.2-8.6% (n=3) }。アクティブグレリン/総グレリン比=血漿アクティブグレリン値÷(血漿アクティブグレリン値+デスアシルグレリン値)×100 (%)にて評価した。また、各症例でのヤールの重症度分類、レボドパ等量、体格指数、血清レプチン値を測定した。さらに、起立性低血圧と排尿障害の重症度の指標として、起立時の収縮期血圧の最大低下幅と残尿量を測定し、消化器症状の重症度の指標としては、SCOPA-AUT の消化器領域の質問票を用いて評価した。統計学的処理は分散分析と Bonferroni の多重比較にて行った。

表 1. グレリン検査を行った症例の臨床像

	PD	MSA	PSP/CBS	Controls
Age (y)	70.6 (8.1)	66.5 (9.7)	72.8 (7.4)	66.6 (16.1)
M:F	14:8	8:9	6:6	13:7
DD (y)	7.4 (3.8) ^a	3.7 (2.9)	4.3 (4.1)	na
H&Y	3.5 (1.0)	3.9 (0.6)	3.5 (1.2)	na
LEDD	509.8	139.7	171.3	na
(mg/day)	(444.1) ^{b,c}	(215.2)	(218.3)	
BMI	20.3 (4.0)	21.4 (4.1)	20.5 (2.9)	22.0 (3.2)
Leptin	3.6 (2.9)	5.8 (4.6)	4.7 (3.5)	6.4 (7.6)
(ng/ml)				

データの表示は平均 (標準偏差)。BMI=体格指数, H&Y=ヤールの重症度分類, LEDD=レボドパ等量, na=not applicable, ns=not significant

(3) 消化管神経病理検索

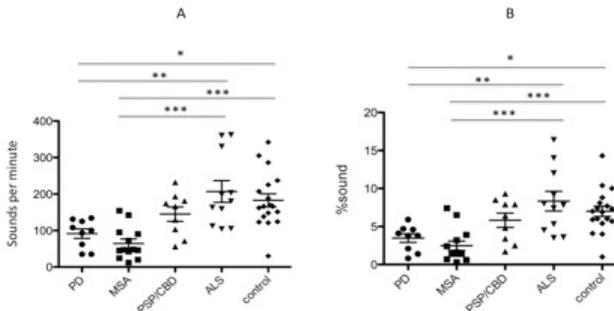
①対象と方法

MSA 4 例と陽性コントロールとして PD 1 例の消化管剖検組織 (ホルマリン固定後パラフィンブロック) 検索部位は食道, 胃, 十二指腸, 小腸, 大腸を用い, 3.5 μm 厚のスライスを作成し, ヘマトキシリン・エオジン染色, ペリフェリン免疫染色, リン酸化アルファシヌクレインおよびニトロ化アルファシヌクレイン免疫染色を行った。

4. 研究成果

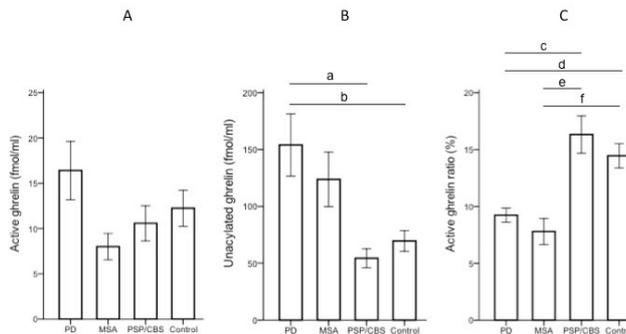
(1) 腸音測定の結果

MSA と PD での分時腸音数ならびに%腸音時間は ALS と対照よりも有意に低下していた。これらのマーカーは PSP・CBD と他の群との間に有意差はなかった (図 1)。アルファシヌクレイン異常症である MSA と PD では、腸音発生頻度の低下が共通して見られた。



(2) グレリン分泌動態

シヌクレインパチーである PD と MSA に共通した、アクティブグレリン/総グレリン比の低下を見出した (図 2) (厚生労働省難治性疾患克服研究事業「運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究班」平成 22 年度会議にて報告、論文投稿中)。



さらに、PD と MSA におけるアクティブグレリン/総グレリン比の低下に関与する因子を検索するため、アクティブグレリン、デスアシルグレリン、そしてアクティブグレリン/総グレリン比と、自律神経機能の重症度を含めたいくつかの臨床的データとの相関をピアソンの相関係数で評価したところ、アクティブグレリン/総グレリン比と消化器症状の重症度との間でのみ明らかな相関が見られた (表 2)。

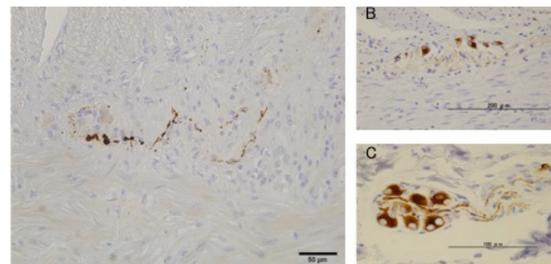
表 2 PD と MSA のグレリン分泌動態に影響する臨床的因子の検索

Factor	Active ghrelin		Unacylated ghrelin		Active ghrelin ratio	
	Correlation	P value	Correlation	P value	Correlation	P value
	coefficient (r)		coefficient (r)		coefficient (r)	
Duration	-0.05	0.75	-0.22	0.17	0.16	0.32
H&Y	0.08	0.61	0.04	0.27	-0.06	0.71
LEDD	0.30	0.06	0.11	0.49	0.30	0.06
BMI	-0.25	0.11	-0.19	0.22	-0.07	0.67
Leptin	-0.22	0.17	-0.10	0.47	-0.27	0.08
Drop of SBP	-0.04	0.82	0.10	0.56	-0.14	0.42
Residual UV	-0.09	0.58	-0.09	0.61	0.14	0.41
GD of SCOPA-AUT	-0.23	0.15	-0.001	0.99	-0.41	0.008 ^a

BMI=体格指数, H&Y=ヤールの重症度分類, LEDD=レボドパ等量, Drop of SBP=起立時の収縮期血圧の最大低下幅, Residual UV=残尿量, GD of SCOPA-AUT= SCOPA-AUT の消化器領域

(3) 消化管神経病理所見

PD 症例では、筋層間神経叢にリン酸化アルファシヌクレイン陽性の Lewy 小体が認められた (図 3-A)。しかし、MSA 症例の筋層間神経叢ならびに粘膜下神経叢の神経節細胞はペリフェリン免疫染色で陽性を示したが (図 3-B, C), これらの神経細胞にリン酸化アルファシヌクレイン陽性封入体は見られなかった。



(4) 考察とまとめ

パーキンソン病と多系統萎縮症では腸音発生頻度とアクティブグレリン/総グレリン比の低下が共通して見られ、両疾患では消化管蠕動調節とグレリン分泌に関与する消化管神経機能が障害されている可能性がある。しかし、消化管神経叢の病理検索では、パーキンソン病にはレヴィ小体が見られたものの、多系統萎縮症では異常構造物は認められなかった。今後は、両疾患の消化管神経叢における神経細胞の萎縮や脱落といった変化を評価し、消化管神経叢での神経変性所見を明らかにする必要がある。

図の説明

図1：ドパミン治療導入前のPDとMSA患者に見られる腸音発生頻度の低下。(左)1分間あたりの腸音数(Sounds per minute)はPDとMSAにおいて疾患対象ならびに正常対照と比較して有意に低下する。(右)測定時間に占める腸音発生時間(%sound)もPDとMSAにおいて疾患・正常対照と比較して有意に低下する。PSP/CBD=進行性核上性麻痺/皮質基底核変性症, ALS=筋萎縮性側索硬化症。
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. (論文は、Clinical Autonomic Research 2011;21:181-4に発表。)

図2：PD, MSA, PSP/CBD患者と対照におけるグレリン分泌。アクティブグレリン値は各群間で有意差はなかった。デスアシルグレリン値はPDにおいてPSP/CBDと対照よりも高値を示した(^a $P = 0.017$, ^b $P = 0.02$)。PDとMSAのアクティブグレリン/総グレリン比はPSP/CBDと対照よりも高値を示した(^c $P < 0.001$, ^d $P = 0.002$, ^e $P < 0.001$, ^f $P < 0.001$)。

図3：PDの筋間神経叢ではリン酸化アルファシヌクレイン陽性の異常構造物が見られる(A)。MSAの筋間神経叢(B)および粘膜下神経叢(C)の神経節細胞はペリフェリン免疫染色で陽性となるが、リン酸化アルファシヌクレイン陽性の異常構造物は見られなかった。A：リン酸化アルファシヌクレイン免疫染色。B, C：ペリフェリン免疫染色。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① 小澤鉄太郎、高堂裕平、西澤正豊：多系統萎縮症における内分泌異常、多系統萎縮症の内分泌異常：自律神経障害との関連。Clinical Neuroscience 2012; 29: 228-231. (査読なし)
- ② Ozawa T, Revesz T, Paviour D, Lees AJ, Quinn N, Tada M, Kakita A, Onodera O, Wakabayashi K, Takahashi H, Nishizawa M, Holton JL. Difference in MSA phenotype distribution between populations: genetics or environment? Journal of Parkinson's Disease 2012; 2: 7-18. (査読あり)
- ③ Ozawa T, Saji E, Yajima R, Onodera O, Nishizawa M. Reduced bowel sounds in Parkinson's disease and multiple system atrophy patients. Clin Auton Res 2011;21(3):181-4. (査読あり)

- ④ 小澤鉄太郎、他田真理、西澤正豊：多系統萎縮症の自律神経病理：生命維持に関わる領域。Clinical Neuroscience 2011; 29: 974-975. (査読なし)
- ⑤ Ozawa T, Shinoda H, Tomita M, Shimohata T, Nakayama H, Nishizawa M. Tremulous arytenoid movements predict severity of glottic stenosis in multiple system atrophy. Mov Disord 2010;25(10):1418-23. (査読あり)

[図書] (計1件)

小澤鉄太郎、高堂裕平、西澤正豊、南江堂、内科(第105巻第6号)、内科疾患の診断基準・病型分類・重症度、IX神経・筋、多系統萎縮症、2010。

[学会発表] (計3件)

- ① 小澤鉄太郎。パーキンソン病と多系統萎縮症に共通するグレリン分泌異常、第64回日本自律神経学会総会、秋田、2011年10月。
- ② Ozawa T. Plasma ghrelin levels are affected in patients with multiple system atrophy: Evidence of gut-brain axis dysfunction. 15th International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorders, Toronto, Canada, June, 2011.
- ③ 小澤鉄太郎。多系統萎縮症におけるグレリン分泌異常：gut-brain axis 障害の可能性、第52回日本神経学会学術大会、名古屋、2011年5月。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小澤 鉄太郎 (OZAWA TETSUTARO)
新潟大学・医歯学総合病院・講師
研究者番号：10377153

(2) 研究分担者

西澤 正豊 (NISHIZAWA MASATOYO)
新潟大学・脳研究所・教授
研究者番号：80198457
高橋 均 (TAKAHASHI HITOSHI)
新潟大学・脳研究所・教授
研究者番号：90206839