

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07402

研究課題名(和文) 口腔内炎症は酸化修飾シヌクレイン生成を介しパーキンソン病発症に関与する

研究課題名(英文) Oral inflammation induces Parkinson disease via production of oxidized synuclein

研究代表者

丸山 和佳子 (Maruyama, Wakako)

愛知学院大学・健康科学部・教授

研究者番号：20333396

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：近年、パーキンソン病(PD)の病因としてBraak仮説が脚光を浴びている。本研究課題では、「PD患者では腸管内慢性炎症が酸化ストレスを増加させ、その結果疾患発症リスクを増大させる」との仮説に基づき、口腔内炎症のPD発症への関与について検討した。口腔炎症のマーカーであり、酸化ストレスを惹起する唾液中myeloperoxidase(MPO)の活性はPD患者では正常対照と比較して有意に増加していた。唾液中には熱感受性をもつMPO活性抑制因子が内在し、PDにおける口腔内炎症の亢進は、細菌叢の変化ではなく、内因性のMPO活性制御因子によ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

本課題では、パーキンソン病(PD)における口腔炎症の役割を明らかにするため研究を行った。口腔炎症を客観的に評価するバイオマーカーは未だ確立していないが、活性化好中球から分泌される酵素であるmyeloperoxidase(MPO)活性が歯周病の早期像である歯肉炎患者の唾液で有意に増加し、病勢の進行と共に低下することを見出した。MPOは早期口腔炎症の生化学的マーカーとして有用である可能性がある。MPOはPD唾液で増加しており、クロロラジカルを生成を介して酸化ストレスによる組織傷害を起こす。MPO活性の制御機構について今後の研究が必要である。

研究成果の概要(英文)：It was suggested that toxic alpha-synuclein (aSyn) oligomer synthesized in the enteric nervous system was transported into the brain to cause neurodegeneration in Parkinson disease (PD). Oral cavity is the most rostral part of gastrointestinal tract but little is known about the role of oral inflammation and oxidative stress in the synthesis of PD causative toxic aSyn. Human saliva obtained from elderly facility residents, and outpatients with PD and control was analyzed. The activity of myeloperoxidase (MPO), the enzyme produced and released from activated neutrophils was found to be a sensitive biomarker for early oral inflammation, and the activity was significantly increased in PD patient compared to the control. The mechanism of the increased MPO activity was studied. It was found that increased MPO activity was not due to the increased protein level, but there exists an intrinsic factor which regulates the enzyme activity.

研究分野：神経科学

キーワード：パーキンソン病 口腔炎症 酸化ストレス ミエロペルオキシダーゼ

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病(PD)は加齢とともに発症率が増加する神経変性疾患の中で、アルツハイマー病に次いで発症頻度の高いものである。超高齢社会を迎える日本のみならず、全世界において患者数が増加しており、予防及び治療法の開発は喫緊の課題である。近年、消化管に分布する自律神経終末で生成された構造異常 alpha-synuclein (Syn)が逆行性に中枢神経に伝播し、PD を惹起するという Braak 仮説が脚光を浴びている。口腔は消化管の中で最も吻側に位置しており、口腔内における炎症は他の消化管におけるものよりも、炎症関連分子や酸化修飾をうけた異常タンパク質の血管系および末梢神経からの逆行性輸送により中枢神経変性のリスクをより強く増大させる可能性がある。口腔内炎症に着目した PD の病因研究は未だ十分ではないため研究を行った。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、「PD 患者では腸管内慢性炎症が酸化ストレスを増加させ、その結果疾患発症リスクを増大させる」との仮説を口腔に応用し、口腔内炎症の PD 発症への関与について検討する。

### 3. 研究の方法

高齢者施設入所中の健康高齢者 13 名、名古屋大学医学部神経内科の外来通院中の名古屋大学医学部神経内科の外来通院中の PD 患者 117 名、レム睡眠行動異常 (RBD) 患者 11 名、正常対照者 68 名の唾液を Salimetrics 社 Cryovial チューブにプラスチックストローを用いて採取 (流涎法) し、直ちに $-30^{\circ}\text{C}$ のフリーザーに凍結保存した。遠心分離にて食物残渣とムチンを除去し、sonication を行ったサンプルを分析に用いた。唾液中の myeloperoxidase (MPO) 活性測定には Neutrophil MPO Activity Assay kit (Cayman) を使用し、microplate reader (Bio-Rad) で 650 nm の吸光度の増加量の直線部分の傾きの測定を行った。MPO のタンパク量は Human Myeloperoxidase Immunoassay Quantikine ELISA kit を用い、ELISA 法により測定した。

施設入所者の唾液サンプル中の MPO 活性を測定し、地域歯周疾患指数 (Community periodontal index, CPI) により評価した歯周病の重症度との相関を検討した。

名古屋大学通院中の患者について、PD 患者、RBD 患者、正常対照者から得られた唾液中 MPO 活性を比較した。

PD 患者または正常者の唾液を市販の MPO 標品に加えて酵素活性を測定し、ヒト唾液が MPO 活性に及ぼす影響を *in vitro* で測定した。

本研究課題に関する人を対象とした医学系研究については、名古屋大学医学部倫理委員会 (受付番号 8277)、愛知学院大学心身科学部倫理委員会 (受付番号 1611) で承認済み。愛知学院大学歯学部については愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認済み (承認番号 466)。

### 4. 研究成果

(1) CPI スコア 0 (正常) から 2 (歯肉炎) までの増加に従い唾液中 MPO 活性は増加し、CPI スコア 1 と 2 の間の p 値は 0.015 と有意だったが、CPI スコア 0 の患者が 2 例しかなかったため、0 と 1 の患者間での有意差は判定できなかった。CPI スコア 3, 4 の歯周病患者では MPO 活性は低下し

た。MPO タンパク質量についても CPI スコアとの相関を検討したところ、やはりスコア 2 の患者で高値である傾向が認められたものの有意ではなかった。また、唾液中の MPO 活性とタンパク質量には正の相関が認められた ( $r = 0.756$ ,  $p < 0.01$ ) もの、MPO タンパク質量が 150 ng/ml 以下と低値であった 5 例中 3 例の活性が 10 ( $\Delta 650\text{nm}/\text{min}/\text{ml}$ ) 以上であることから、MPO 活性に影響を及ぼす何らかの内在性因子の存在が示唆された。

以上の結果より歯周病の初期段階である歯肉炎において、MPO の唾液中活性が有意に増加していることが示され、MPO の唾液中活性は早期歯周病のバイオマーカーとして有用である可能性が示された。

(2) 正常対照者、PD 患者、RBD 患者の唾液中 MPO 活性は、 $4.39 \pm 9.08$  ( $\Delta 650\text{nm}/\text{min}/\text{ml}$ )、 $5.90 \pm 7.48$  ( $\Delta 650\text{nm}/\text{min}/\text{ml}$ )、 $3.01 \pm 2.14$  ( $\Delta 650\text{nm}/\text{min}/\text{ml}$ ) であり、PD 患者でのみ正常対照者及び RBD 患者と比較して有意に増加していた ( $p < 0.05$ )。このことより、PD 患者においては、口腔内の好中球の活性化が起こっている可能性が示された。

(3) PD における唾液中 MPO 活性増加の機序について、唾液中に存在する因子が MPO 活性に影響を及ぼす可能性を検討した。正常対照患者 35 例の唾液の中では 19 例が MPO 活性を増加させ、3 例が活性を抑制した。PD 患者 52 例の唾液の中では 18 例が MPO 活性を増加させ、21 例が活性を抑制した。唾液による MPO 活性抑制効果は、唾液を加熱処理することにより消失した。

## 引用文献

Braak H et al., Neurobiol. Aging, 2003

Del Tredici et al., Acta Neuropathol. 2010

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Naoi Makoto, Maruyama Wakako, Shamoto-Nagai Masayo	4. 巻 23
2. 論文標題 Neuroprotective Function of Rasagiline and Selegiline, Inhibitors of Type B Monoamine Oxidase, and Role of Monoamine Oxidases in Synucleinopathies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 11059 ~ 11059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms231911059	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 Naoi M, Maruyama M, Shamoto-Nagai M	4. 巻 -
2. 論文標題 Phytochemical in synucleinopathies: Targeting mitochondrial dysfunction and a-synuclein toxicity.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Studies in Natural Product Chemistry	6. 最初と最後の頁 -
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Naoi M, Maruyama W	4. 巻 -
2. 論文標題 N-Methyl-(R)salsolinol and enzymes involved in enantioselective biosynthesis, bioactivation, and toxicity in Parkinson's disease.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Handbook of Neurotoxicology	6. 最初と最後の頁 1573-1592
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Naoi M, Maruyama M, Shamoto-Nagai M	4. 巻 -
2. 論文標題 Parkinsonian toxins: From MPTP to endogenous neurotoxin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 NeuroPsychopharmacology	6. 最初と最後の頁 -
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Naoi M, Maruyama M, Shamoto-Nagai M	4. 巻 -
2. 論文標題 Ginseng and ginsenosides in depression.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 NeuroPsychopharmacology	6. 最初と最後の頁 -
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 無
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 Naoi Makoto, Maruyama Wakako, Shamoto-Nagai Masayo	4. 巻 -
2. 論文標題 Disease-modifying treatment of Parkinson's disease by phytochemicals: targeting multiple pathogenic factors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neural Transmission	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00702-021-02427-8	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 Naoi M, Maruyama W, Riederer P.	4. 巻 -
2. 論文標題 TCM substances in Neuropsychopharmacotherapy: Basic Aspects with a focus on depression.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 NeuroPsychopharmacology	6. 最初と最後の頁 -
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maruyama W, Shamoto-Nagai M, Naoi M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Nutrition in Brain Ageing; Its relevance to Age-associated Neurodegeneration.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 NeuroPsychopharmacology	6. 最初と最後の頁 -
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Makoto Naoi and Wakako Maruyama
2. 発表標題 Neurotrophic function of phytochemicals in synucleinopathies
3. 学会等名 Clinical Neurochemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Makoto Naoi, Wakako Maruyama and Masayo Shamoto-Nagai
2. 発表標題 Traditional Japanese medicine in anxiety and depression
3. 学会等名 World Association for Stress Related and Anxiety Disorders (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永井雅代、直井信、丸山和佳子
2. 発表標題 緑茶カテキンによる唾液中myeloperoxidaseの阻害機構 (2-11-15)
3. 学会等名 第74回日本ビタミン学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山和佳子
2. 発表標題 老化に関する最近の話題
3. 学会等名 第19回高付加価値食品開発のためのフォーラム (日本食品・機械研究会) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山和佳子
2. 発表標題 健康寿命を伸ばす栄養のヒント
3. 学会等名 なごや健康カレッジ（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山和佳子
2. 発表標題 神経変性疾患に対する栄養学的先制医療の可能性について
3. 学会等名 第19回 神経科学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoi M, Maruyama W, Shamoto-Nagai M.
2. 発表標題 Traditional Japanese Medicine, Kampo, in anxiety and depression.
3. 学会等名 The 3rd International Congress of the World Association for Stress Related and Anxiety Disorders (WASAD)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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