

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591290

研究課題名(和文) シヌクレイノパチーにおける消化管病理のスペクトラム：中枢病変との相関を解析

研究課題名(英文) The spectrum of pathological involvement of enteric nervous system in synucleinopathy

研究代表者

小澤 鉄太郎 (Ozawa, Tetsutaro)

新潟大学・医歯学総合病院・教授

研究者番号：10377153

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：シヌクレイノパチーである多系統萎縮症(MSA)の腸管ニューロンの病理変化を検討するため、MSA3例の剖検標本を用い、小腸の4 μm厚のスライスにおける核小体を有する腸管ニューロンにおいて、胞体面積と核の断面積を画像解析ソフト(cellSens ver. 1.6)にて解析した。MSAにおける筋層間神経叢の腸管ニューロンの計測結果は、胞体面積が $115.9 \pm 4.8 \mu\text{m}^2$ 、核面積が $50.0 \pm 1.6 \mu\text{m}^2$ であり、これらは年齢を合わせたコントロールと比べて明らかに小さかった($P < 0.0001$)。粘膜下神経叢では有意な差は見られなかった。MSAの筋層間神経叢の腸管ニューロンは萎縮している可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Patients with synucleinopathies including multiple system atrophy (MSA) frequently exhibit gastrointestinal symptoms. This study aimed to determine whether enteric neurons in MSA patients are involved in the pathogenic mechanism of MSA. Serial 4 μm-thick slices of the small intestine were prepared using 10%-formalin fixed and paraffin embedded materials from 3 autopsied cases of MSA. A quantitative assessment of cross-sectional areas of enteric neurons having nuclei was performed using the computer software (cellSens ver. 1.6). In myenteric neurons, mean cross-sectional areas of cytoplasm and nuclei were $115.9 \pm 4.8 \mu\text{m}^2$ and $50.0 \pm 1.6 \mu\text{m}^2$, respectively. These areas of cytoplasm and nuclei were significantly smaller in MSA than in age-matched controls ($P < 0.0001$). In submucosal neurons, there was no significant difference in these areas between MSA and control. Our results suggest atrophic changes in myenteric neurons, which contribute to the gastrointestinal symptoms in MSA patients.

研究分野：医歯学系

キーワード：シヌクレイノパチー 多系統萎縮症 消化管神経叢 腸管ニューロン 神経変性 自律神経 消化器症状

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病とレビー小体型認知症は、ニューロンにアルファシヌクレイン陽性の封入体であるレビー小体が出現することからシヌクレイノパチーと称される。これらの疾患では中枢神経系のみならず、交感神経節、そして消化管神経叢にもシヌクレイノパチー病理が出現し、消化器症状の発症機構に関与しつつ病初期から存在する病理学的変化として注目されている[1]。一方で、同じシヌクレイノパチーに属する多系統萎縮症(MSA)では、中枢神経系でのシヌクレイノパチー病理の主座はオリゴデンドログリアであり[2]、末梢神経系や臓器壁内の神経系にシヌクレイノパチー病理を見出す事は、パーキンソン病に比べて困難であると考えられる。しかし、MSAにおいてもパーキンソン病同様に消化器症状は認められ[3]、その機序として、消化管神経叢の病理変化が想定される。MSAでの消化管病理を検索することは、他のシヌクレイノパチーとの病態の違いを検討する上で有用と考えられる。

2. 研究の目的

MSAの消化管神経叢におけるシヌクレイノパチー病理、あるいはその他の神経病理学的変化を検索する。

3. 研究の方法

MSA 3例(剖検例)の食道、胃、十二指腸、小腸、大腸の剖検標本を用いてリン酸化アルファシヌクレイン染色を行った。次に、腸管ニューロンの萎縮性変化の有無を検討するため、同じくMSA 3例の剖検標本を用い、小腸の4 μm厚のスライスにペリフェリン免疫染色を施し、粘膜下神経叢ならびに筋層間神経叢において、核小体を有する腸管ニューロンの、ペリフェリン陽性の胞体面積と核の断面積を画像解析ソフト(cellSens Ver. 1.6)にて解析した。疾患コントロールとして年齢を合わせた筋萎縮性側索硬化症(ALS) 2例と中枢神経疾患を有しないコントロール3例を用いた。

統計学的処理は、SPSS Statistics ver. 22を用い、3群間での胞体面積と核の断面積の比較においては、分散分析とBonferroniの多重比較を行った。P<0.05で有意差ありと判断した。

4. 研究成果

MSA 3例での食道、胃、十二指腸、小腸、大腸の剖検標本を用いたリン酸化アルファシヌクレイン染色の結果では、陽性を示す構造物は発見できなかった。また、腸管ニューロンの脱落・減少の検討を試みたが、壁内に網状に存在する消化管神経叢のニューロン数を連続切片で評価することは困難であった。

腸管ニューロンの萎縮性変化の検討では、計測し得た筋層間神経叢の腸管ニューロン

数は、MSA 3例で計149個、ALS 2例で計77個、コントロール3例で計131個であった。これら3グループにおける筋層間神経叢の腸管ニューロンの計測結果をヒストグラム(図1)で見ると、MSAでは度数のピークは胞体面積の100 μm²未満の方へシフトしていた。また、MSAにおける胞体面積のバリエーションは、ALSとコントロールに比べて少ない傾向を示した。胞体面積と核面積の平均値を比較すると(図2)MSAの胞体面積が115.9 ± 4.8 μm²、核面積が50.0 ± 1.6 μm²であり、ALSの胞体面積の263.6 ± 13.6 μm² (P<0.0001)と核面積の70.3 ± 3.5 μm² (P<0.0001)、ならびにコントロールの胞体面積の255.7 ± 10.6 μm² (P<0.0001)と核面積の76.3 ± 2.6 μm² (P<0.0001)と比して明らかに小さい結果となった(データの表示は平均値 ± 標準誤差)。ALSとコントロールの間では、胞体面積と核面積ともに明らかに差は見られなかった。

粘膜下神経叢の腸管ニューロンについても同様の検討を行ったが、これについては胞体面積と核面積ともに、MSAとALSならびにコントロールとの間で有意な差は見られなかった(図3)。

これらの結果から、MSAの消化管神経叢ではシヌクレイノパチー病理は明らかではなかったものの、腸管ニューロンは筋層間神経叢において萎縮を示している可能性が提起された。この結果は、MSAの消化管機能障害に関与する病態の一端を示しているものと考えられる。

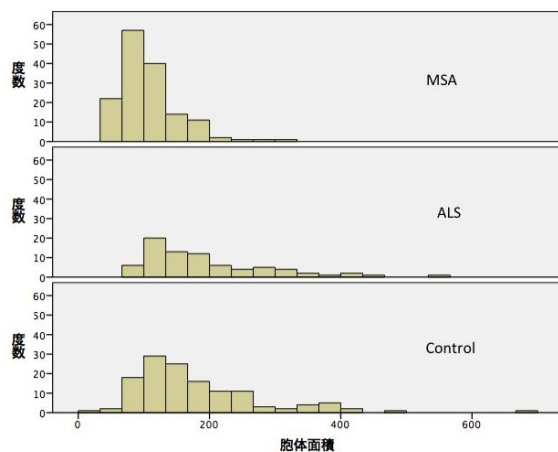


図1. 筋層間神経叢ニューロンのペリフェリン免疫染色にて陽性を示す胞体面積のヒストグラム。MSAでは胞体面積の度数のピークが100 μm²未満の方へシフトする。また、MSAにおける胞体面積のバリエーションは、ALSとコントロールに比べて少ない傾向を示す。

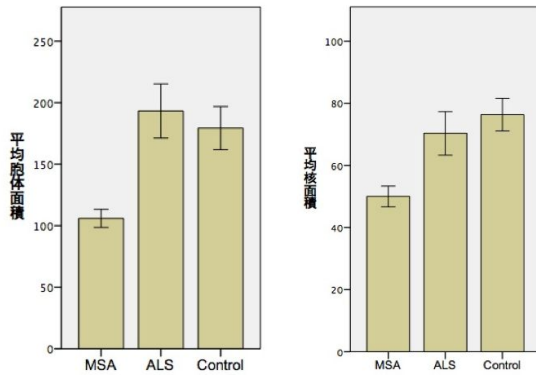


図2. MSA, ALS,ならびにコントロールにおける、筋層間神経叢ニューロンの平均胞体面積(左)と平均核面積(右)の比較。MSAでは、ALSとコントロールに比し、平均胞体面積と平均核面積ともに明らかに小さい結果を示す($P < 0.0001$)。データの表示は平均値 ± 標準誤差。

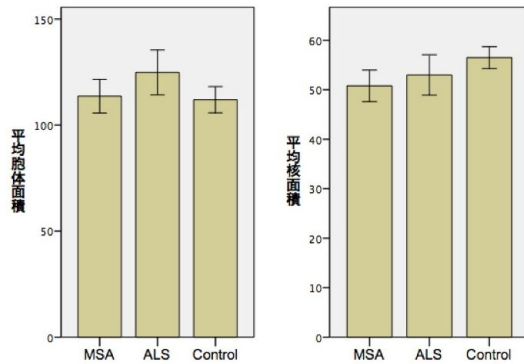


図3. MSA, ALS,ならびにコントロールにおける、粘膜下神経叢ニューロンの平均胞体面積(左)と平均核面積(右)の比較。MSAとALSならびにコントロールとの間で有意な差は見られない。データの表示は平均値 ± 標準誤差。

< 引用文献 >

Braak H, de Vos RA, Bohl J, Del Tredici K. Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci Lett* 2006;396:67-72.

Ozawa T, Paviour D, Quinn NP, Josephs KA, Sangha H, Kilford L, Healy DG, Wood NW, Lees AJ, Holton JL, Revesz T. The spectrum of pathological involvement of the striatonigral and olivopontocerebellar systems in multiple system atrophy: clinicopathological correlations. *Brain* 2004;127:2657-2671.

Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T, et al. Questionnaire-based assessment of pelvic organ dysfunction in multiple system atrophy. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2009;24:972-978.

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5件)

Sato Y, Goshi S, Kawauchi Y, Nishigaki Y, Mizuno KI, Hashimoto S, Takeuchi M, Kobayashi M, Ozawa T, Nishizawa M, Aoyagi Y. Safety of unsedated PEG placement using transoral ultrathin endoscopy in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Nutr Neurosci* 2014 オンラインジャーナル、査読あり DOI: <http://dx.doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000161>

Ozawa T, Tokunaga J, Arakawa M, Ishikawa A, Takeuchi R, Yokoseki A, Sone H, Nishizawa M. The circulating level of leptin and blood pressure in patients with multiple system atrophy. *J Neurol Sci* 2014;347:349-51 査読あり. doi: 10.1016/j.jns.2014.09.045.

Ozawa T, Tokunaga J, Arakawa M, Ishikawa A, Takeuchi R, Mezaki N, Miura T, Sakai N, Hokari M, Takeshima A, Utsumi K, Kondo T, Yokoseki A, Nishizawa M. Abnormal ghrelin secretion contributes to gastrointestinal symptoms in multiple system atrophy patients. *J Neurol* 2013;260:2073-2077 査読あり.

小澤鉄太郎. MSAの臨床検査: 内分泌の側面から見たMSA. *Clinical Neuroscience* 31巻3号, 2013 p.326-328 査読なし

小澤鉄太郎, 徳永純, 西澤正豊. パーキンソン病と多系統萎縮症の消化器症状: グレリンはどう関与するか? *自律神経* 49巻4号, 2012 p.221-226 査読あり.

[学会発表](計4件)

小澤鉄太郎. 多系統萎縮症とパーキンソン病における脂肪組織内分泌と起立性低血圧との関連の検討, 第67回日本自律神経学会総会. 2014/10/30 ラフレさいたま(埼玉県・さいたま市)

Ozawa T. Serum leptin level, body mass index, and blood pressure in patients with multiple system

atrophy. 18th International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorders. 2014/6/10 ストックホルム市(スウェーデン)

Ozawa T. Abnormal ghrelin secretion contributes to gastrointestinal symptoms in multiple system atrophy patients. 8th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience. 2013/8/1 ギーゼン市(ドイツ)

小澤鉄太郎. 多系統萎縮症の消化器症状にはグレリンが関与する. 第54回日本神経学会学術大会 2013/5/29. 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)

〔図書〕(計1件)

日本自律神経学会編、自律神経機能検査第5版、文光堂、消化管ホルモン、2015印刷中。

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

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・教授

研究者番号：10377153

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

西澤 正豊(NISHIZAWA, Masatoyo)

新潟大学・脳研究所・教授

研究者番号：80198457