

氏名	なかしま あきお 中島 章雄		
学位の種類	博士（薬学）		
報告番号	甲第1727号		
学位授与の日付	平成30年3月15日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（課程博士）		
学位論文題目	血清尿酸値の変動とパーキンソン病発症・進展との関連性に関する基礎および臨床研究		
論文審査委員	(主査) 福岡大学	教授	片岡 泰文
	(副査) 福岡大学	教授	今給黎 修
	福岡大学	准教授	山内 淳史

内容の要旨

パーキンソン病 (PD) は中脳黒質のドパミン神経細胞が変性することで発症する神経変性疾患である。主な症状として震えや固縮があり、長期間になると認知症や寝たきりになることがある神経難病で、患者数は1000人に約1人～1.5人、60歳以上では100人に約1人と極めて多い。

PDにおける神経変性の要因の一つとして、酸化ストレスが関与している。酸化ストレスによるミトコンドリアへの傷害は活性酸素種 (ROS) の蓄積につながり、最終的に細胞死を引き起こす。このROS産生を抑制することにより、PDにおけるドパミン神経変性が回避できるのではないかと考えられている。

尿酸は痛風の原因物質であると同時に、ヒト体内での強力な抗酸化物質として機能している。近年、尿酸の抗酸化作用に基づく神経保護作用が注目され、多くの臨床研究が行われている。PD関連では、PD患者の血中尿酸濃度が相対的に低いという報告が多い。しかし、日本人対象の報告はほとんどない。またPD発症・進展に対する尿酸の作用についての基礎研究も少ないのが現状である。

本研究では、PD発症・進展に及ぼす尿酸の影響について、日本人を対象とした観察研究を行った。また、高尿酸血症-PDモデルマウスを作成し、尿酸の神経保護作用について検討した。

第1章 パーキンソン病患者の血中尿酸濃度に関する観察研究

文献検索サイトPubMedを用い、検索式(uric acid) and (Parkinson' s disease) and (human) を用いて過去5年間の検索を行った結果、80編の文献が抽出され、臨床系は56編で、日本人を対象とした報告は3編だった。また非臨床系の報告のうち、動物モデルを

使用した基礎研究は6編のみであった。

文献調査の結果より日本人を対象とした臨床研究が少ないことから、PD患者と非PD患者での血中尿酸濃度に関する観察研究を企てた。2016年9月～2017年8月までの1年間に福岡大学病院神経内科受診の全患者を対象とし、患者背景、病名、血清尿酸値および処方薬などを電子カルテ情報より抽出した。PD群、非PD群の血中尿酸濃度の平均値はそれぞれ、 4.75 ± 1.3 mg/dL、 5.24 ± 1.5 mg/dLで、PD群で有意に低かった。さらに年齢、性別、腎機能で調整後のロジスティック回帰分析を行ったところ、血中尿酸値が1.0上昇することによるPD罹患のオッズ比は23%減少した。また、血中尿酸値を層別したところ、4 mg/dL以下の群と比較して、5～6 mg/dL群、6 mg/dL以上群で、有意なPD罹患オッズ比の低下が認められた (Table)。

Table PD発症と血中尿酸値との関連解析

		オッズ比	95%信頼区間下限	95%信頼区間上限	P値
尿酸値 (mg/dL)	<4.0	1.00			
	4.0-5.0	0.86	0.54	1.38	0.541
	5.0-6.0	0.58	0.34	1.00	0.048
	6.0<	0.38	0.20	0.72	0.003
	age	1.03	1.02	1.05	< 0.001
	eGFR	1.00	0.99	1.01	0.809
	sex	1.29	0.87	1.91	0.213

第2章 高尿酸血症モデルマウスの作製と尿酸の脳移行性

尿酸のPD発症に及ぼす影響に関する基礎研究は少なく、特に過去5年間でのin vivo研究報告は6編であった。臨床研究が多く報告されているのに対して動物モデルでの検証が進んでいない理由は、げっ歯類は尿酸分解酵素ウリカーゼを有するため、高尿酸血症モデルでの検討がやや煩雑であることが理由と考えられる。そこで本研究では、既に報告のあるラット食餌性高尿酸血症モデルの作製方法を改変し、マウス食餌性高尿酸血症モデル作製を行った。1%尿酸およびウリカーゼ阻害薬であるオキソン酸カリウムを2.5%含有するマウス飼料を作製し、1週間自由摂食させたときの血中尿酸濃度は、有意な上昇を示し、通常食群と比較して、約3~4倍の濃度となった。また尿酸の代わりにイノシンを含有させた場合は、尿酸濃度は上昇しなかった。次に、1%尿酸および2.5%オキソン酸カリウムを含有する試料を高尿酸食として自由摂食させ、6-OHDA誘発パーキンソン病モデルを作製した。通常食摂食群 (Control群およびPD群) と比較して高尿酸食摂食群 (HU群、PD-HU群) では、有意に尿酸濃度が上昇し、約4倍を示した (Fig. 1)。さらに、循環血液中における尿酸の脳移行性を検討したところ、血液脳関門 (BBB) における尿酸の輸送系は、飽和性

でもなく、特異的な受容体または輸送体によっても媒介されないことが示唆された。つまり、高尿酸食を摂取すると血漿尿酸濃度が上昇し、単純拡散により尿酸は BBB を通過し、脳内に取り込まれていることがわかった。

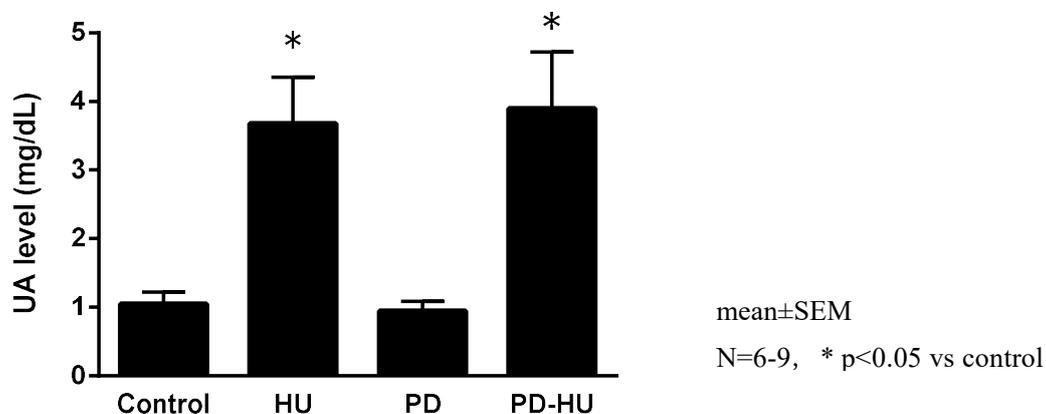


Fig. 1 高尿酸食摂食後の血中尿酸濃度

第3章 6-OHDA 誘発パーキンソンモデルマウスを用いた尿酸のPD 発症進展抑制作用

3-1 運動機能障害に及ぼす尿酸の影響

6-OHDA の片側線条体注入によるパーキンソン病モデルマウス PD 群と、注入1週間前より高尿酸食を与えた PD-HU 群との運動機能を Rotarod Test により比較した。落下までの時間は、PD 群で有意に減少し、PD-HU 群で改善した。

また、アポモルフィン誘発による注入反対側への回転運動数を調べたところ、PD 群では回転数が有意に増加した。この増加は PD-HU 群で有意に抑制された (Fig. 2)。

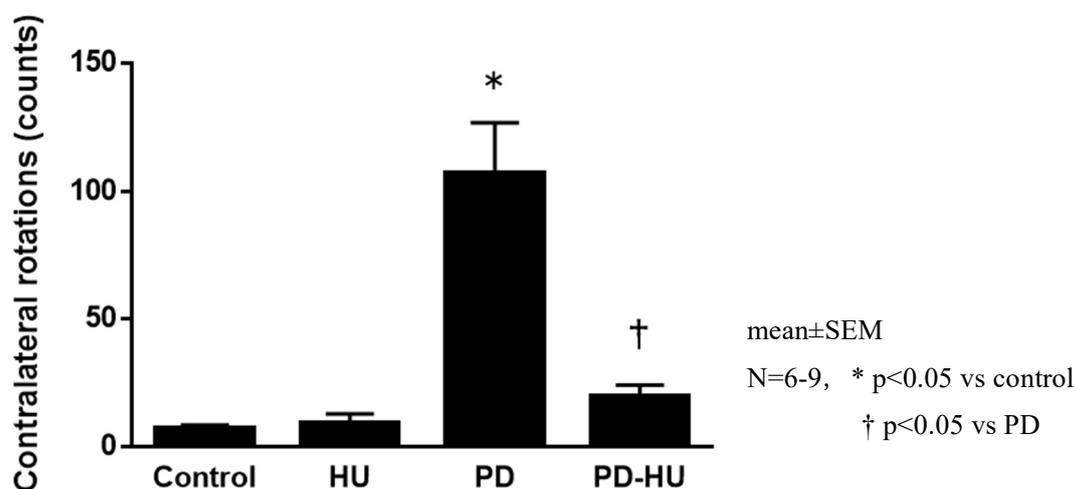


Fig. 2 アポモルフィン誘発回転運動に及ぼす尿酸の影響

3-2 線条体 TH 陽性細胞の変化

線条体ドパミン神経に対する尿酸の影響を調べるために、チロシンハイドロキシラーゼ (TH) 発現量を測定した。PD 群の右線条体(傷害側)の TH 発現量は左線条体(健常側)と比較して、有意な減少が認められた。一方、PD-HU 群では左右線条体での有意な発現量の差は認められなかった (Fig. 3)。また、免疫組織染色を行い、線条体および黒質における TH 陽性細胞を比較したところ、PD 群で傷害側の TH 陽性細胞の減少が認められた。

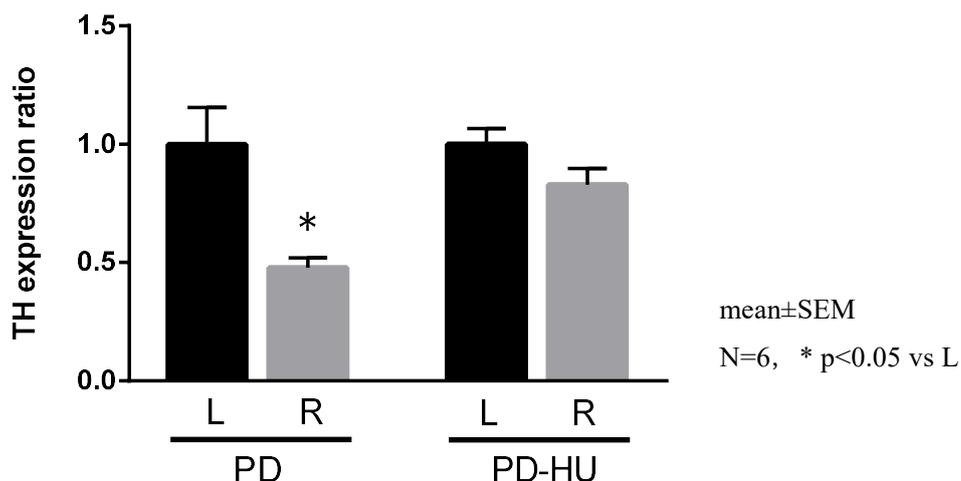


Fig. 3 線条体 TH 発現量に及ぼす尿酸の影響

【考察・総括】

本研究では、尿酸の PD 発症・進展に対する影響について、臨床および基礎の視点より検討を行った。臨床研究では、既報の臨床研究と同様に、血中尿酸濃度の上昇に伴い PD 罹患のオッズ比が減少することが示された。また基礎研究では、高尿酸血症-PD モデルマウスを用いて、高尿酸状態が黒質および線条体でのドパミン神経保護作用を示し、運動機能障害を抑制することを示した。高尿酸血症時に血中尿酸が脳内に移行していることから、血中尿酸の脳移行に伴う抗酸化作用が神経保護に関与している可能性が高い。

本研究より、臨床・基礎の両面から PD 発症・進展抑制に尿酸の抗酸化作用が有用であることが示唆された。今後、尿酸の神経保護作用機序および末梢臓器に及ぼす影響などについて、引き続き検討を進める必要がある。

審査の結果の要旨

パーキンソン病 (PD) は中脳黒質のドパミン神経細胞が変性することで発症する神経変性疾患である。主な症状として震えや固縮があり、長期になると認知症や寝たきりになることがある神経難病である。PD における神経変性の要因の一つとして、酸化ストレスが関与している。酸化ストレスによるミトコンドリアへの傷害は活性酸素種 (ROS) の蓄積につながり、最終的に細胞死を引き起こす。

尿酸は痛風の原因物質であると同時に、ヒト体内での強力な抗酸化物質として機能している。近年、尿酸の抗酸化作用に基づく神経保護作用が注目され、多くの臨床研究が行われている。PD 関連では、PD 患者の血中尿酸濃度が相対的に低いという報告が多い。しかし、日本人対象の報告はほとんどない。また PD 発症・進展に対する尿酸の作用についての基礎研究も少ないのが現状である。本学位論文は、PD 発症・進展に及ぼす尿酸の影響について明らかにすることを目的とし、臨床および基礎研究を展開したものである。

第 1 章では、福岡大学病院神経内科受診患者を対象に、電子カルテ情報を基に後ろ向き観察研究を行った。PD 患者の血中尿酸濃度の平均値は、非 PD 患者と比較し有意に低かった。ロジスティック回帰分析による多変量解析では、血中尿酸濃度の上昇により PD 罹患の調整済みオッズ比が減少し、4 mg/dL 以下の群と比較して、5~6 mg/dL 群、6 mg/dL 以上群で、有意な PD 罹患オッズ比の低下が認められた。さらに、このオッズ比の低下に性差は認められなかった。日本人を対象とした臨床報告が少ない現状で、本研究結果は貴重であり、PD 発症予防・予測における尿酸濃度管理の可能性を提起した点で意義深い。

第 2 章では、基礎実験において PD 病態に対する尿酸の影響を明らかにするべく、まず食餌性高尿酸血症モデルマウスの作製を行った。高尿酸食として、1%尿酸および尿酸代謝酵素阻害薬であるオキソニン酸カリウム 2.5%を含有するマウス飼料を作製し、1 週間摂食させたところ、血中尿酸濃度は、通常食群と比較して有意な上昇を示し、約 3~4 倍の濃度となった。また尿酸の脳移行動態は受動拡散であることを明らかにし、高尿酸血症状態であっても脳移行性は良好であることが示された。本章では、簡便な食餌性高尿酸血症モデルの作製と、尿酸が神経保護作用を示すうえで重要な点である脳移行性を明らかにした点が評価された。

第 3 章では、前章の高尿酸血症モデルマウスに対し、神経毒である 6-OHDA を片側線条体に注入して PD モデルを作製し、PD 病態に及ぼす尿酸の影響について行動学的、組織学的評価を行った。ロータロッドテストの結果より、PD 群では協調運動機能障害が起こり、PD-高尿酸血症 (HU) 群で回復していた。またアポモルフィン誘発による傷害反対側への回転運動数は、PD 群で有意に増加し、その増加は PD-HU 群で抑制された。組織学的には、黒質および線条体での抗チロシンヒドロキシラーゼ (TH) 抗体陽性反応が、PD 群では傷害側 (右線条体) で減少し、PD-HU 群ではそ

の減少が抑制されていた。同様の結果が、線条体 TH タンパク質発現量で認められた。本結果は、尿酸が PD 病態の発症・進展を抑制することを示した点、またその抑制がドパミン神経保護作用を介していることを明らかにした点で意義があると評価した。

以上、本学位論文は PD 発症・進展に対する尿酸の影響に関して、臨床および基礎研究でのエビデンスが充分でない点を問題視し、それぞれ観察研究および動物実験を立案し貴重な結論を得た。すなわち、血中尿酸濃度の低下は PD 罹患リスクを高めることを明らかとし、適切な血中尿酸濃度を設定することにより、尿酸のドパミン神経保護作用を介して、PD 発症・進展を予防あるいは遅延できる可能性を示した。今後の PD 治療において新たな選択肢を提示する基盤となりうる研究であり、学位論文としての的確であると判定した。あわせて、公聴会審査における申請者の発表および質疑応答を鑑み、学位を授与するに応分の能力を有すると結論した。