

令和4年度(第27回)  
弘前大学医学部学術賞  
奨励賞受賞論文

TAKEUCHI Y, MIZUKAMI H, KUDOH K, OSONOI S, SASAKI T, KUSHIBIKI H, OGASAWARA S, HARA Y, IGAWA A, PAN X, YAMADA T, YAMAZAKI K, MIKAMI T, DAIMON M, YAGIHASHI S, HAKAMADA K, NAKAJI S. The diversity and abundance of gut microbiota are associated with the pain sensation threshold in the Japanese population. *Neurobiology of Disease*, Volume 173, 2022, 105839, ISSN 0969-9961, <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105839>.

## 日本人において腸内細菌叢の多様性は痛覚閾値と関係する

弘前大学医学部医学研究科 分子病態病理学講座  
竹内 祐 貴

### 【背景】

末梢神経は、大径神経と小径神経に分類される。大径神経は、A $\alpha$ 線維、A $\beta$ 線維で構成されている。対して、小径神経は、有髄のA $\delta$ 線維と無髄のC線維から構成されており、その機能は温度変化と痛みを感知する。これらの障害である小径神経障害(SFN)は、代謝性疾患、自己免疫疾患、感染症、ビタミン欠乏、遺伝性、特発性に分類され、中でも代謝性疾患に分類される糖尿病性多発性神経障害(DPN)は、全小径神経障害の中で20%を占め最も多いと言われている。DPNでは、耐糖能異常を生じている段階からSFNが発症し、症状として、疼痛もしくは痛覚の喪失をもたらすことがある。SFNは、表皮内電気刺激(IES)用電極を用いることで評価できることが知られている。HbA1c正常高値、酸化ストレスマーカーである尿中8-OHdG値、血中リポ多糖結合タンパク質(LBP)値は、表皮内神経痛覚閾値検査(PINT)による疼痛閾値上昇と相関し、SFNに対するバイオマーカーとなることが明らかとなっている。腸内細菌叢は数兆個もの細菌から構成されており、免疫の調節、物質吸収、エネルギー代謝など様々な機能を担っている。腸内細菌叢の組成に変化が生じることにより、全身性の炎症や局所的な炎症が起こると言われている。DPNが生じると、DPNを発症していない2型糖尿病のみの人と比較して、腸内細菌叢の著しく多様性が損なわれているとされている一方で、口腔内細菌叢も歯周病など、歯列状態だけではなく、糖尿病をはじめとする疾患の状態を反映することも示されている。これまでの研究で、糖尿病は口腔内細菌叢の細菌多様性を低下させることが報告されている。これらの知見は、口腔内細菌叢、腸内細菌叢の変化がSFNの病態を説明しうる可能性がある。しかし、その相関などは評価されていない。今回、空腹時血糖値異常(IFG)および2型糖尿病を含む一般日本人集団において、PINTを評価し、また、PINTと腸内細菌叢および口腔内細菌叢の変化との相関を検討することとした。

### 【方法】

2018年岩木健康増進プロジェクトに参加した計1056名を対象とした。痛み感覚はPINTに基づき評価した。PINTスコア $<0.15$  mAの患者をlow-PINT群(n=718)、それ以外の患者をHigh-PINT群(n=283)とした。さらに、HbA1c値、空腹時血糖値、糖尿病の既往から耐糖能のある群とない群に分けて

検討した。口腔内細菌叢と腸内細菌叢の主座標分析および微生物叢の  $\alpha/\beta$ diversity を評価し、臨床データと微生物叢データの相関を検討した。

### 【結果】

口腔内細菌叢では主座標分析で、Low-PINT 群と High-PINT 群の間に微生物の組成の違いは認められなかった。また、糖尿病と IFG を持つ被験者を除外しても、Low-PINT 群と High-PINT 群の間に微生物の組成に有意差は認められなかった。糖尿病と IFG を持つ被験者を除外しても、Shannon 指数 ( $p = 0.22$ ) および Chao1 指数 ( $p = 0.91$ ) の有意な差は認められなかった。口腔内細菌叢では合計 283 属が同定された。糖尿病と IFG の有無にかかわらず、Low-PINT 群と High-PINT 群の間で、これらの属の相対存在比に有意差は無かった。それに対して腸内細菌叢の主座標分析では、糖尿病と IFG を含む Low-PINT 群と High-PINT 群の間で、微生物組成の有意差が認められた ( $p < 0.01$ )。糖尿病と IFG を持つ被験者を除外しても、有意差は保たれていた ( $p < 0.01$ )。糖尿病と IFG を含む Low-PINT 群と High-PINT 群の間では、Shannon 指数 ( $p < 0.05$ ) と Chao1 指数 ( $p < 0.05$ ) に有意な差が見られた。これらの有意差は、糖尿病や IFG を持つ被験者を除いても維持された (Shannon 指数  $p < 0.05$ , Chao1 指数  $p < 0.05$ )。さらに、腸内細菌叢は 317 属が同定された。このうち、相対存在比が 1% 以上の属は 17 属であった。これらの 1% 以上の存在比を持つ属のうち、3 つの属の相対的存在比に、Low-PINT 群と High-PINT 群の間で有意差が認められた。Bacteroides 属は、Low-PINT 群は High-PINT 群よりも相対量が有意に多かった ( $11.3 \pm 7.0\%$  vs  $10.0 \pm 6.7\%$ ,  $p < 0.01$ )。この差は、糖尿病と IFG を持つ被験者を除外しても有意差は保たれた ( $11.2 \pm 6.9\%$  vs  $10.0 \pm 6.5\%$ ,  $p < 0.05$ )。Prevotella 属の相対存在量は、High-PINT 群で Low-PINT 群より有意に高かった ( $5.8 \pm 1.1\%$  vs  $4.8 \pm 1.0\%$ ,  $p < 0.05$ )。この差に関しても糖尿病と IFG を持つ被験者を除外しても有意差は保たれた ( $5.4 \pm 10.0\%$  vs  $4.6 \pm 9.9\%$ ,  $p < 0.05$ ) が、多変量解析にて有意差は消失した ( $p = 0.238$ )。Bifidobacterium 属の相対存在量は、Low-PINT 群と High-PINT 群で同等であったが ( $8.1 \pm 7.6\%$  vs  $7.7 \pm 8.3\%$ ,  $p = 0.08$ )、糖尿病および IFG のある被験者を除外すると、相対存在量は High-PINT 群よりも Low-PINT 群で有意に高くなった ( $8.4 \pm 7.9\%$  vs  $7.6 \pm 8.1\%$ ,  $p < 0.05$ )。このことは、Bifidobacterium の存在量が糖代謝異常によって変化することを示唆している。

### 【考察】

今回の研究により、日本人一般集団において、口腔内細菌叢ではなく腸内細菌叢の変化が PINT スコアの上昇と有意に関連し、特に Bacteroides 属が High-PINT 群で Low-PINT 群と比べて有意な低下を示し、この関連は糖尿病の有無や加齢とは無関係である可能性が初めて明らかにされた。分子的な機序として想定されるのが Bacteroides 属の減少により、酪酸などを含む短鎖脂肪酸の産生が減少することで腸管の透過性が亢進し、血中の LPS (Lipopolysaccharide) が上昇するのではないかと考えられる。それにより慢性炎症が惹起され、SFN の発症に関与することが想定される。今後は同被験者の長期的な観察研究が必要であり、この岩木健康増進プロジェクトで確認できると考えられる。第二に、神経伝導速度や皮膚や腓骨神経の分子的・病理的变化などの侵襲的な評価は本研究では行うことができなかった。そのため、小径神経の機能評価に加え、皮膚や腓骨神経の構造的・分子的变化の評価が必要となる。したがって、今後の治療への応用には、in vivo あるいは in vitro の基礎研究へと発展させ、実験的な確認が必要であると考えられる。

### 【文献】

- 1) Itabashi, C., et al. Normal High HbA1c a Risk Factor for Abnormal Pain Threshold in the Japanese Population. Front Endocrinol (Lausanne). 2019 Oct 2;10:651. doi: 10.3389/fendo.2019.00651.

- 2) Kudoh, K., et al. Lipopolysaccharide-binding protein is a distinctive biomarker of abnormal pain threshold in the general Japanese population. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2020 Oct;8(1):e001739. doi: 10.1136/bmjdr-2020-001739.
- 3) Osonoi, S., et al. Increased Oxidative Stress Underlies Abnormal Pain Threshold in a Normoglycemic Japanese Population. *Int J Mol Sci*. 2020 Nov 5;21(21):8306. doi: 10.3390/ijms21218306.
- 4) Suzuki, C., et al. Elevated pain threshold in patients with asymptomatic diabetic neuropathy: an intraepidermal electrical stimulation study. *Muscle Nerve*. 2016 Jun;54(1):146-9. doi: 10.1002/mus.25158.