

令和元年6月19日現在

機関番号：33804

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10318

研究課題名(和文) う蝕原性細菌による脳血管疾患悪化に対する臨床調査と高リスク者簡易同定法の確立

研究課題名(英文) Clinical investigation of the cerebrovascular diseases aggravation caused by dental caries pathogens and establishing simplified technique for detecting the high risk group.

研究代表者

田中 篤太郎 (Tanaka, Tokutaro)

聖隷クリストファー大学・看護学研究科・臨床教授

研究者番号：90283366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：脳動脈瘤症例の唾液検体の収集は2018年6月、調査票の記入漏れの調査は2019年5月に終了。1080検体が集積されプロトコルに合致する1010例を解析対象とした。未破裂脳動脈瘤未手術433，未破裂脳動脈瘤術後107，破裂脳動脈瘤術前急性期256，破裂脳動脈瘤術後慢性期214例であり、今後解析予定である。

菌の簡易検出法に関しては、これまでの選択的培地に生育したS. mutansをPCRにかけたが今回はcnm陽性S. mutansのモノクローナル抗体を作製し、Elisa法などを用いた検出法を試みた。しかしこの方法では唾液の菌量が少ないため検出できなかった。現在はマイクロビーズ法を検討している

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで出血性脳卒中のリスクファクターとして報告された細菌はなかった。口腔内常在細菌であるS. mutansの一部は血小板凝集を抑制するCnm蛋白を有し実験的にはmatrix metalloproteinase-9を活性化し血管壁のcollagenを融解する。この菌が脳動脈瘤破裂のリスクファクターであることが証明され、またその簡易同定法が確立されれば、未破裂脳動脈瘤の患者さんの破裂を未然に防ぐための新たな治療法につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We collected saliva samples of cerebral aneurysm cases from 1080 cases in which 1010 cases were consistent with our protocol. Among these 1010 samples, 433 were from non-treated unruptured cerebral aneurysm (UCA) cases, 107 from post-operative UCA cases, 256 from ruptured cerebral aneurysm (RCA) before the operation cases, 214 from RCA in postoperative chronic stage cases. These samples are being analyzed now.

To find easy method to diagnose the presence of Cnm positive S. mutans in the saliva, we tried ELISA method through making mono-clonal antibody to this bacteria. Unfortunately, this did not work well because the bacterial volume in the saliva was quite low. Now we are trying the microbeads technique.

研究分野：脳卒中

キーワード：bacterial infection cerebrovascular disease stroke risk factors intracranial aneurysm a neurysmal rupture

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまでに、口腔内常在菌であるう蝕の主要な病原細菌である *Streptococcus mutans* の菌体表層のコラーゲン結合タンパク (Cnm タンパク) が、脳出血の悪化に關与することを示した。このう蝕原性菌は Cnm タンパクによりコラーゲンと結合し血小板凝集を抑制し、Matrix metalloproteinase 9 を活性化することで血管壁を融解できる。これまで指摘された口腔内常在菌は動脈硬化や動脈閉塞に關与することが報告されているが、出血性脳卒中に關連する可能性が指摘されたものはなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的はこの Cnm タンパク陽性 *Streptococcus mutans* が未破裂脳動脈瘤の破裂の危険因子であるかどうかを多施設共同研究により明らかとすることである。

3. 研究の方法

脳神経外科約 20 施設(浜松医科大学附属病院、日本医科大学附属病院、浜松医療センター、聖隷三方原病院、焼津市立病院、静岡日赤病院、沼津市立病院、富士宮市立病院、すずかけセントラル病院、中東遠総合医療センター、内山脳神経外科、大石脳神経外科、杉原脳神経外科、佐藤クリニック、澤井脳神経外科)において、破裂脳動脈瘤患者(急性期 250 例、慢性期 250 例)及び未破裂脳動脈瘤患者(500 例)を目標に、検体すわなちだ液を集めている。だ液から培養された *Streptococcus mutans* の細菌 DNA を抽出して Cnm タンパクをコードする *cnm* 遺伝子の存在を検討した。2016 年 5 月からは聖隷横浜病院脳神経外科が、2017 年 2 月からは富士脳障害研究所附属病院が加わっている。

4. 研究成果

脳動脈瘤症例のだ液検体の収集は 2018 年 6 月、調査票の記入漏れの調査は 2019 年 5 月に終了。1080 検体が集積されプロトコールに合致する 1010 例を解析対象とした。未破裂脳動脈瘤未手術 433、未破裂脳動脈瘤術後 107、破裂脳動脈瘤術前急性期 256、破裂脳動脈瘤術後慢性期 214 例であり、今後解析予定である。

菌の簡易検出法に関しては、これまでの選択的培地に生育した *S. mutans* を PCR にかけたが今回は *cnm* 陽性 *S. mutans* のモノクローナル抗体を作製し、Elisa 法などを用いた検出法を試みた。しかしこの方法ではだ液の菌量が少ないため検出できなかった。現在はマイクロビーズ法を検討している。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

Watanabe I, Kuriyama N, Miyatani F, Nomura R, Naka S, Nakano K, Ihara M, Iwai K, Matsui D, Ozaki E, Koyama T, Nishigaki M, Yamamoto T, Tamura A, Mizuno T, Akazawa K6, Takada A, Takeda K, Yamada K, Nakagawa M, Tanaka T, Kanamura N, Friedland RP, Watanabe Y. Oral Cnm-positive Streptococcus Mutans Expressing Collagen Binding Activity is a Risk Factor for Cerebral Microbleeds and Cognitive Impairment. Sci Rep. 査読有、2016 Dec 9;6:38561 pp1-10

DOI: 10.1038/srep38561

Chikanori Inenaga, Kazuya Hokamura, Kazuhiko Nakano, Ryota Nomura, Shuhei Naka, Toshihiko Ohashi, Takashi Ooshima, Nagato Kuriyama, Toshimitsu Hamasaki, Koichiro Wada, Kazuo Umemura, Tokutaro Tanaka. A Potential New Risk Factor for Stroke: Streptococcus Mutans With Collagen-Binding Protein. WORLD NEUROSURGERY、査読有、113 巻、2018、pp77-81.

DOI: 10.1016/j.wneu.2018.01.158.

Tokutaro Tanaka, Ryota Nomura, Kazuya Hokamura, Toshimitsu Hamasaki, Chikanori Inenaga, Kazuo Umemura, Kazuhiko Nakano. In Reply to “Streptococcus mutans with Collagen-Binding Protein: From Oral Cavity to Brain”, WORLD NEUROSURGERY、査読有、115 巻、2018、pp487

〔学会発表〕(計 12 件)

田中篤太郎、黒田直生人、内田大貴、中戸川裕一、山添知宏、稲永親憲、河守重徳、田中洋平、未破裂脳動脈瘤フォローアップ外来における DICOM ピュアーの工夫、第 45 回日本脳卒中の外科学会、2016

中戸川裕一、内田大貴、山添知宏、稲永親憲、山本貴道、田中篤太郎、高齢くも膜下出血症例はなぜ脳血管攣縮が少ないのか？ 脳血管攣縮をおこす危険因子を含めての検討、第 32 回スパズムシンポジウム、2016

内田大貴、中戸川 裕一、山添 知宏、稲永 親憲、山本 貴道、田中 篤太郎、抗血栓療法施行中にクモ膜下出血、脳出血を発症した症例の検討、第 45 回日本脳卒中学会、2016

田中篤太郎、黒田直生人、内田大貴、中戸川裕一、山添知宏、稲永親憲、内山 剛、大橋寿彦、梅村和夫、外村和也、仲野和彦、野村良太、和田孝一郎、濱崎俊光、脳動脈瘤破裂の危険因子としての口腔内常在細菌、第 25 回日本脳ドック学会総会、2016

Naoto Kuroda, aiki Uchida, Tomohiro Yamazoe, Hirokazu Nakatogawa, Chikanori Inenaga, Tokuraro Tanaka, A case of recurrent epidural abscess caused by dental alveolar abscess 10 years after the first infection and cranioplasty. 国際フォーラム -Cutting-edge knowledge and future perspectives-, 2016

Tokutaro Tanaka, Status report of Shizuoka Saliva S. mutans Study for SAH. 国際フォーラム-Cutting-edge knowledge and future perspectives-, 2016

田中篤太郎、脳卒中の危険因子としての口腔内常在細菌、S. mutans、第 5 回 Cerebral and Cardiac Disease Seminar、2017

内田大貴、中戸川裕一、稲永親憲、田中篤太郎、脳卒中外科における手術室 2 室移動式 CT の使用経験、第 46 回日本脳卒中の外科学会、2017

田中篤太郎、黒田直生人、内田大貴、飯島健太郎、中戸川裕一、渡邊水樹 山添知宏、稲永親憲、抗血栓療法中の出血性脳卒中 2016 年の傾向、第 10 回静岡県血栓と血管フォーラム、2017

田中篤太郎、Shizuoka Saliva Streptococcus mutans Stroke Study for subarachnoid hemorrhage (5S for SAH)の進行と現状、第 21 回浜松医科大学脳神経外科同門会研究会、2018

荒川 朋弥、中戸川 裕一、天野 裕貴、内田 大貴、川路 博史、林 正孝、山添 知宏、稲永 親憲、田中 篤太郎、当院における来院時心肺停止患者におけるくも膜下出血患者の検討、第 48 回日本脳卒中の外科学会学術集会、2019

中嶋 広太、中戸川 裕一、天野 裕貴、内田 大貴、川路 博史、林 正孝、山添 知宏、稲永親憲、田中 篤太郎、経時的な経過観察のみで縮小した手術適応のない未破裂脳動脈瘤の検討、第 48 回日本脳卒中の外科学会学術集会、2019

〔図書〕(計 1 件)

感染と脳動脈瘤

田中篤太郎 未破裂脳動脈瘤 Japan standard 嘉山孝正監修

〔その他〕
ホームページ等

<https://upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr.cgi?function=brows&action=brows∓recptno=R000012168&type=summary&language=E>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：仲野 和彦

ローマ字氏名： Nakano, Kazuhiko

所属研究機関名：大阪大学

部局名：歯学研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：00379083

研究分担者氏名：濱崎 俊充

ローマ字氏名： Hamasaki, Toshimitsu

所属研究機関名：大阪大学

部局名：国際医工情報センター

職名：招へい教授

研究者番号（8桁）：40379243

(2)研究協力者

研究協力者氏名：梅村 和夫

ローマ字氏名： Umemura, Kazuo

研究協力者氏名：外村 和也

ローマ字氏名： Hokamura, Kazuya

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。