

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09072

研究課題名（和文）腸内細菌による新たな脳動脈瘤破裂予防法の開発

研究課題名（英文）Development of a new therapy to prevent rupture of cerebral aneurysms by targeting gut microbiome

研究代表者

中川 僚太（Nakagawa, Ryota）

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50889920

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：未破裂脳動脈瘤患者、くも膜下出血患者の便検体に対するメタゲノムショットガンシーケンスを用いた菌叢解析を2つのデータセットで行ったところ、再現性のある結果が得られた。5種類の菌種で2群間に有意差が認められ、種々の共変量を含めた感度分析でも同様の結果であった。さらに外部のゲノムワイド関連解析結果を元にポリジェニックリスクスコア（PRS）解析を行ったところ、健常群との比較ではPRS自体に脳動脈瘤保有という疾患予測能があるものの、未破裂、破裂2群間に差を認めなかった。一方で腸内細菌叢はPRSとは再現性のある関連がなく、遺伝因子と独立した、未破裂・破裂脳動脈瘤に関連した因子になりうると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで報告されている脳動脈瘤に関連したGWASの結果によると、脳動脈瘤全体の解析でSNP-based heritabilityは20-30%前後だが未破裂脳動脈瘤と破裂脳動脈瘤の間に有意な差のある領域は認められておらず、未破裂と破裂を規定する遺伝的因子は同定されていない。我々が今回同定した菌種は脳動脈瘤の遺伝因子と独立した疾患関連因子であると考えられ、環境因子が脳動脈瘤を未破裂から破裂に変化させることが示唆された。これまで脳動脈瘤の破裂を予防する治療は確立されていないが、腸内細菌叢を標的とした治療はくも膜下出血の発症を減少させようという社会的意義の大きい研究成果が得られたと考える。

研究成果の概要（英文）：A case-control analysis of gut microbiome using metagenomic shotgun sequencing on stool samples from patients with unruptured intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage: significant differences were found between the two groups for five bacterial species, and a sensitivity analysis including various covariates showed similar results. Furthermore, polygenic risk score (PRS) analysis based on external genome-wide association analysis results showed no difference between the two groups of unruptured and ruptured intracranial aneurysms, although the PRS itself has disease predictive ability in terms of intracranial aneurysm possession when compared with the healthy control group. On the other hand, gut microbiome was not reproducibly associated with PRS, suggesting that it may be a factor associated with unruptured and ruptured intracranial aneurysms, independent of genetic factors. These results are currently being submitted for publication.

研究分野：脳血管障害

キーワード：腸内細菌叢 くも膜下出血

1 . 研究開始当初の背景

未破裂脳動脈瘤は中年人口の約 3%が保有しており、多くは頭痛やめまいなどの非特異的症状の際に偶然発見される。画質の向上や脳ドックの普及により、今後発見される患者数はさらに増加することが見込まれる。未破裂脳動脈瘤の破裂率は約 1%と非常に低いものの、破裂してくも膜下出血 (SAH) を発症すると致死率は高く、社会復帰率は低い。高齢者では、破裂リスクは通常より高く、高齢者介護の主因である上、生産世代での発症が他の脳卒中と比較して多いことを考えると本疾患がもたらす社会的な損失は大きい。加えて、日本人は他人種より破裂率が高いことが知られ、UIA を早期発見し、破裂予防を行うことは我が国においては殊更重要である。UIA に対する破裂予防は、医療技術の進歩により侵襲的治療は大きな発展を遂げた一方で、非侵襲的治療は禁煙、飲酒制限のみで他の有効な予防法は未だない。特に、発見頻度が高い高齢者は、破裂リスクが高いにも関わらず、予後や手術合併症の観点から侵襲的治療の対象とはならないことが多く、有効な非侵襲的予防治療法の開発は重要な課題である。また、破裂率の低さを考慮すると侵襲的治療を行った中に将来破裂しなかった動脈瘤が含まれていると考えられる。今日の技術革新を用いて、より正確な破裂リスクモデルを構築し、テーラメード医療の確立を行うこともまた重要な課題となっている。

2 . 研究の目的

我々の研究室では多施設共同前向き研究を行い、「くも膜下出血直後」と「安定した未破裂脳動脈瘤」の患者の腸内細菌叢を 16S rRNA を用いて比較した。結果として脳動脈瘤破裂に関わる有力な細菌を発見したため、これを論文化して報告した (Stroke, (2022), 895-903, 29(2))。本研究ではこの結果をさらに臨床応用へと近づけるため、メタゲノムショットガンシーケンスを用いて細菌種の同定を行い、責任細菌種の分離培養を行うこと、それらの動物への移植実験により作用機序を解明することを目的とした。

3 . 研究の方法

1 年目はヒト便検体収集方法の確立と収集に費やし、一部の検体についてはメタゲノムショットガンシーケンス解析を行った。

2 年目は、さらに複数の施設からヒト便検体を収集し、追加のメタゲノムショットガンシーケンスを遺伝統計学教室と共同で行った。

3 年目は前年度の結果についての解釈を行った。患者の血液検査から得られた SNP 情報や患者の基礎疾患などの背景情報を踏まえた解析を行った。その結果、腸内細菌は遺伝因子と独立した、破裂・未破裂脳動脈瘤に関連した因子になりうるという結果が得られた。この結果については現在論文化中である。

一方基礎実験ではマウスに対する抗生剤投与と便移植による腸内細菌叢変化、SAH モデルの作成を行った。実験によりマウスの腸内細菌叢が変化していることは 16S rRNA 解析により確認できた。メタゲノムショットガンシーケンスによる細菌種の同定は行うことができたが分離培養やマウスへの移植実験については現時点で行うことができておらず今後の課題となっている。

4 . 研究成果

未破裂脳動脈瘤患者、くも膜下出血患者の便検体に対するメタゲノムショットガンシーケンスを用いた菌叢解析 (case-control) を 2 つのデータセットで行ったところ、再現性のある結果が得られた。5 種類の菌種で 2 群間に有意差が認められ、種々の共変量を含めた感度分析でも同様の結果であった。さらに外部のゲノムワイド関連解析 (GWAS) 結果を元にポリジェニックリスクスコア (PRS) 解析を行ったところ、健常群との比較では PRS 自体に脳動脈瘤保有という疾患予測能があるものの、未破裂、破裂 2 群間に差を認めなかった。一方で腸内細菌叢は PRS とは再現性のある関連がなく、遺伝因子と独立した、未破裂・破裂脳動脈瘤に関連した因子になりうると思われた。

これまで報告されている脳動脈瘤に関連した GWAS の結果によると、脳動脈瘤全体の解析で SNP-based heritability は 20-30% 前後だが未破裂脳動脈瘤と破裂脳動脈瘤の間に有意な差のある領域は認められておらず、未破裂と破裂を規定する遺伝的因子は同定されていない。我々が今回同定した菌種は脳動脈瘤の遺伝因子と独立した疾患関連因子であると考えられ、環境因子が脳動脈瘤を未破裂から破裂に変化させることが示唆された。これまで未破裂脳動脈瘤が破裂に至ることを予防する治療は確立していないが、腸内細菌叢を標的とした治療を行うことで予後不良な疾患であるくも膜下出血を減少させうるという学術的、社会的意義の大きい研究成果が得られたと考える。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1．発表者名 高垣匡寿
2．発表標題 くも膜下出血患者における腸内細菌の特徴
3．学会等名 第80回日本脳神経外科学会総会
4．発表年 2021年

1．発表者名 高垣匡寿
2．発表標題 メタゲノム解析を用いたくも膜下出血患者における腸内細菌の特徴
3．学会等名 日本脳神経外科学会第81回学術総会
4．発表年 2022年

1．発表者名 中川僚太
2．発表標題 視交叉前槽血液注入くも膜下出血モデルマウス作成の実際
3．学会等名 日本脳神経外科学会第81回学術総会
4．発表年 2022年

1．発表者名 高垣匡寿
2．発表標題 脳血管内治療の治療成績と腸内細菌叢との関係
3．学会等名 日本脳神経外科学会第82回学術総会
4．発表年 2023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
研究 分担者	中村 元 (Nakamura Hajime) (80533794)	大阪大学・大学院医学系研究科・講師 (14401)	
研究 分担者	高垣 匡寿 (Takagaki Masatoshi) (70724433)	大阪大学・大学院医学系研究科・助教 (14401)	
研究 分担者	竹中 朋文 (Takenaka Tomofumi) (60869527)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	
研究 分担者	井筒 伸之 (Izutsu Nobuyuki) (20834170)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	
研究 分担者	川端 修平 (Kawabata Syuhei) (20764062)	大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員 (14401)	
研究 分担者	松井 雄一 (Matsui Yuichi) (10764061)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	

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