

令和 6 年 5 月 1 日現在

機関番号：13802  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2021～2023  
課題番号：21K09124  
研究課題名(和文) 脳動脈瘤破裂における危険因子としての高病原性う蝕原因菌による破裂メカニズム解明

研究課題名(英文) Elucidation of the Rupture Mechanism by Highly Pathogenic Caries-Causing Bacteria as a Risk Factor in Cerebral Artery Aneurysm Rupture

研究代表者  
梅村 和夫 (umemura, kazuo)  
浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：40232912  
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)：脳動脈瘤の破裂の原因として、炎症の関与が考えられる。高脂血症による動脈硬化病変を形成させ検討した。LDL受容体およびApobec1を欠損させたマウスを用いることによって高脂質血症とし、実験的に脳動脈瘤を誘導することによって、脳動脈瘤の発生および破裂の変化をみた。実験開始から3週間後に脳組織を摘出し評価した。対照群ではくも膜下出血を発症した動物は58.8%であった。一方、高LDL血症を発症している動物では3.5%しかくも膜下出血を発症しなかった。膠原線維に富む血管構造となっており、脳動脈瘤破裂に対し保護的な作用が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
脳動脈瘤の破裂は生命を危険にさらし、命を取り留めたととしても介護が必要な状態を招く可能性が高い。破裂のメカニズムを解明することで、予防できる可能性が高まる。今回の研究では、マウスを使用し、そのメカニズムを解明することを目的として行われた。この結果から示されたことは、血管壁の線維化は破裂に対して、保護的に働くことを示唆された。

研究成果の概要(英文)：Inflammation is considered a cause of cerebral aneurysm rupture. Atherosclerotic lesions induced by hyperlipidemia were examined. By using mice deficient in LDL receptors and Apobec1, hyperlipidemia was induced, and cerebral aneurysms were experimentally induced to observe changes in the development and rupture of cerebral aneurysms. Brain tissues were extracted and evaluated three weeks after the experiment began. In the control group, 58.8% of the animals developed subarachnoid hemorrhage. On the other hand, only 3.5% of the animals with high LDL hyperlipidemia developed subarachnoid hemorrhage. The vascular structure was rich in collagen fibers, suggesting a protective effect against cerebral aneurysm rupture."

研究分野：循環薬理学

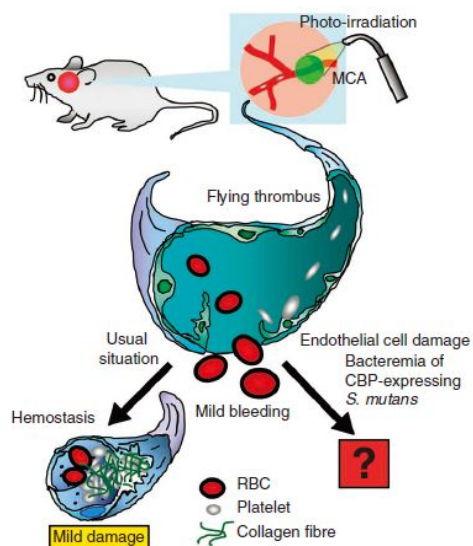
キーワード：脳動脈瘤 マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々は、口腔細菌である、う蝕原因菌が頭蓋内出血のリスクファクタの1つである可能性を示した。この成果は *Nature Communications* (2011) のオンライン版に掲載された。この研究では、う蝕原因菌の中に高病原性菌が存在し、その菌は脳血管内皮傷害部位に集積し、matrix metalloproteinase (MMP) -9 の産生亢進や活性化を増強し、血管の細胞外マトリックスを融解し、頭蓋内出血を増強する可能性を示した(図)。さらに、脳疾患患者の

口腔細菌を解析したところ、脳出血、心原性脳塞栓、破裂脳動脈瘤で病原性う蝕原因菌を保菌している頻度が高いことを確認した(表)。口腔細菌は、抜歯や歯磨きで血液中に容易に侵入し、菌血症を起こすといわれている。このことから、口腔内に高病原性う蝕原因菌を保菌し、抜歯や歯磨きにより菌血症を起こすと頭蓋内出血を増強する可能性を示すもので、頭蓋内脳出血のリスクファクタになる可能性を示すものである。



図：高病原性う蝕原因菌によるマウス頭蓋内出血

この高病原性有意に高

表 脳卒中患者の病型における *S. mutans* および *cnm* の陽性率

	<i>S. mutans</i> 陽性率	<i>cnm</i> 陽性率	<i>p</i>
健常人	30/51(58.8%)	4/30(13.3%)	-
脳卒中患者			
心原性脳梗塞	22/48(45.8%)	11/22(50.0%)	0.0057
心原性脳梗塞 非弁膜症性心房細動	16/34(47.1%)	7/16(43.8%)	0.0319
非心原性脳梗塞	91/152(59.9%)	28/91(30.8%)	NS
脳出血	29/53(54.7%)	11/29(37.9%)	0.0391
破裂脳動脈瘤	20/39(41.0%)	8/20(40.0%)	0.0445
未破裂脳動脈瘤	56/98(57.1%)	8/56(14.3%)	NS
その他	26/39(66.7%)	5/26(19.2%)	NS <i>p</i> =0.7188

*S. mutans* : う蝕原因菌、*cnm* : コラーゲン結合蛋白

Fisher's test

この研究では、高病原性う蝕原因菌は菌の表面にコラーゲン結合蛋白を発現していることが特徴で、このコラーゲン結合蛋白をロックアウトした高病原性う蝕原因菌を用いた実験では頭蓋内出血は増強しなかった。さらに、このコラーゲン結合蛋白を人工的に合成して、菌本体がない状態で蛋白だけを投与した場合にも頭蓋内出血を増強することを確認した。

出血部位には菌が集積することが確認されており、その菌に対する防御機構として好中球の遊走そして貪食をすることで、菌を殺すことが生体防御として行われていると思われる。最近、活性化好中球は、他の細胞とは異なり、核内のクロマチンを細胞外に放出することが発見された (Brinkmann et al, *Science*, 303:1532-1535, 2004)。このクロマチン網は neutrophil

extracellular traps (NETs) と呼ばれており、血小板をトラップして活性化し、血栓形成や炎症に重要な働きをしていると報告されている。菌が集積して引き起こされる脳出血のメカニズムは不明である。

## 2．研究の目的

脳動脈瘤の破裂の原因として、炎症、特に好中球の関与が考えられる。そこで、血管に炎症を起こさせることで、動脈瘤の破裂にどのような影響を及ぼすか、その際に炎症、特に好中球の役割について検討することとした。血管に炎症を起こさせるために、高脂血症による動脈硬化病変を形成させ検討することとした。

## 3．研究の方法

LDL受容体およびApobec1を欠損させたマウス (Ldlr<sup>-/-</sup>, Apobec1<sup>-/-</sup>) を用いることによって血中の脂質レベルを高くし、そのマウスに実験的に脳動脈瘤を誘導することによって、脳動脈瘤の発生および破裂の変化をみた。実験開始の1週間前に片腎を摘出した。脳底クモ膜下腔に豚膵エラスターゼを投与し、脳血管を脆弱化した。また、エラスターゼ投与後、皮下に徐放性のデソキシコルチコステロンペレットを留置するとともに、飲水として1%食塩水を摂取させることで高血圧を誘導した。実験開始から3週間後に脳組織を摘出し、脳動脈瘤の有無およびくも膜下出血の有無を評価した。また、脳動脈瘤モデル作製後の脳血管の形態変化を経時的に観察をした。

## 4．研究成果

コントロールとして用いたC57BL/6群は17匹中10例においてくも膜下出血がみられ、また4例に未破裂脳動脈瘤があった。一方、Ldlr<sup>-/-</sup>, Apobec1<sup>-/-</sup>群は28例中1例においてのみくも膜下出血がみられ、10例に未破裂脳動脈瘤がみられた。脳動脈瘤モデル作製前は両群とも脳血管の形状に差は見られなかったが、Ldlr<sup>-/-</sup>, Apobec1<sup>-/-</sup>群は脳動脈瘤モデル作製により膠原線維に富む血管構造となっていた。Ldlr<sup>-/-</sup>, Apobec1<sup>-/-</sup>群はくも膜下出血がほとんどみられず、中膜に膠原線維に富む構造に構造変化をすることで脳動脈瘤破裂に対し保護的な作用が示唆された。さらに、非侵襲的にマウスの脳血管の経時的变化を観察する機材および技術を有しており、脳動脈瘤モデル作製前、1、3、7、14 および 21 日目に3T MRI を用いて脳血管の形態の変化を観察し、どのタイミングで動脈瘤の形成および破裂に対し大きな変化が起こるのかを探索する計画である。さらに、脳動脈に大きな変化があったポイントで脳血管を採取し、病理標本作製し抗体を用い観察を行う計画である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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