

令和 5 年 4 月 28 日現在

機関番号：34519  
研究種目：奨励研究  
研究期間：2022～2022  
課題番号：22H04349  
研究課題名 腸内細菌叢がクモ膜下出血後の遅発性脳虚血に与える影響

## 研究代表者

松川 東俊 (Matsukawa, Hidetoshi)

兵庫医科大学・医学部・非常勤講師

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要：クモ膜下出血 (SAH) は、脳血管の瘤 (脳動脈瘤) が破れて生じる重症疾患である。主な原因は遅発性脳虚血 (DCI) と呼ばれる病態で、根本的な解決策は存在しない。近年、腸管と脳の関与を指す「腸脳連関」が提唱され、腸内細菌の関与が示されている。SAH 後の DCI 発症に腸内細菌が関与すると推測し、SAH マウスモデルを用い、DCI における腸脳連関の解明を目指す事を目的とした。抗生剤の投与で腸内細菌が変化した SAH マウスは、DCI が高度に生じ、神経機能が不良となっていた。本研究によって、抗生剤投与による腸内細菌の変化が、DCI を増悪させ、神経学的機能を低下させることが示された。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでも、脳梗塞と腸内細菌の関与を示す研究は散見されるものの、SAH 後の DCI と腸内細菌との関連を検討した研究は認めなかった。その点で本研究では、腸内細菌が SAH 後の DCI に及ぼす影響を、腸内細菌の変化のみならず炎症性サイトカインの動態も含めて考察しており、新規性は十分高い。また、今後詳細な腸内細菌叢解析を行うことで DCI に寄与する特定の腸内細菌種が同定される可能性もある。その場合、当該細菌種をプロバイオティクス製剤として SAH 患者に投与することで DCI を抑制するという、本疾患領域では従来なかったような新規治療法が展開しうる可能性がある。

研究分野：脳血管障害

キーワード：脳動脈瘤 くも膜下出血 遅発性脳虚血 腸内細菌

## 1. 研究の目的

脳動脈瘤破裂によるクモ膜下出血 (SAH) は治療後も生存患者の多くが生活の質を落とす予後不良疾患である。SAH 亜急性期管理において長らく問題となっているのが遅発性脳虚血 (DCI) と呼ばれる病態である。DCI には早期脳損傷、脳血管攣縮、微小血栓、脳血管透過性亢進などの病態が複合的に関与している。近年、腸脳連関なる概念が提唱されるようになった。これは腸管と中枢神経系における神経学的・免疫学的・内分泌学的な双方向性信号伝達を指す用語であり、腸内細菌叢が深く関与していることが報告されている。また腸内細菌叢と脳内小血管の生理的病的変化との関与も知られる。上記知見より我々は、SAH 後の DCI 発症にも腸内細菌叢が関与すると推測した。そこで本研究では SAH マウスモデルを用い、DCI に対して腸内細菌叢が関与するメカニズムを明らかにし、本病態における腸脳連関の解明を目的とした。

## 2. 研究成果

SAH マウスモデルに対し抗生剤を含む 4 mmol/L 酢酸溶液を経口投与し腸内細菌叢を変容させた。実験群は SAH の有無および腸内細菌叢変容処理の有無に応じて、4 群 (抗生剤 - SAH -, 抗生剤 + SAH -, 抗生剤 - SAH +, 抗生剤 + SAH +) に分類した。最初に、SAH モデル作成直後にマウス脳を摘出し、脳底槽 6 区画の各区画での SAH 血腫量を 0-3 の範囲でスコア化し(0:血腫なし、1:少量、2:クモ膜下腔の動脈を認識可能、3:クモ膜下腔の動脈を認識不可能)、合算することで血腫量を評価した。結果、腸内細菌叢変容処理の有無によって SAH の血腫量に有意な変化は認めなかった。次に、SAH モデル作成 3 日後に心臓内より採取した血液を用いて、血中サイトカイン (VEGF, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, CXCL1/GRO/KC/CINC-1, CXCL10/IP10/CRG2, GCSF, MMP-12, CCL5/RANTES, IL-10) の網羅的解析を施行すると、他の 3 群に比し腸内細菌叢変容 SAH マウス群で CCL5/RANTES が有意に高値であった。また、SAH モデル作成 3 日後に採取した脳切片を用いて、iba1 染色を行うと、他の 3 群に比し腸内細菌叢変容 SAH マウス群で活性化型ミクログリアの集積数が有意に高値であった (図 1)。さらに SAH モデルマウスの神経機能評価に特化した神経機能スコアを用いて SAH 発症 3 日後に評価を行うと、他の 3 群に比し腸内細菌叢変容 SAH マウス群で、有意に神経機能スコアは低値であった (図 2)。

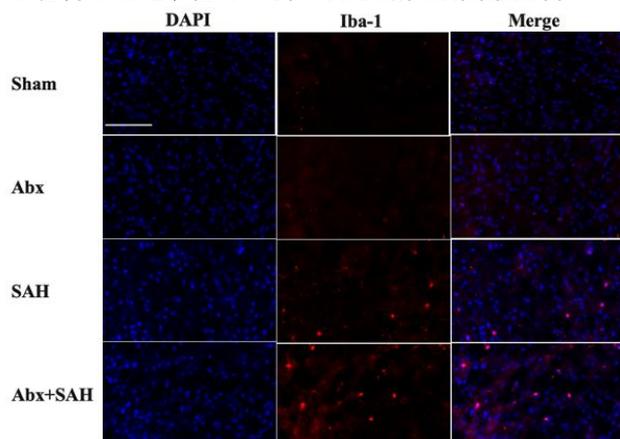


図 1 SAH 発症 3 日後の脳皮質 iba1 染色

本研究結果により、抗生剤投与による腸内細菌叢の変容によって、活性化型ミクログリアを介する脳実質内炎症や DCI の一病態である脳血管攣縮が増悪し、神経学的機能を低下させることが示された。今後、マウス糞便から細菌由来ゲノム DNA を抽出し、PCR 法にて 16S rRNA 遺伝子発現領域を増幅し、次世代シーケンサーを用いた腸内細菌叢解析に供する予定である。また、データ化に関しては QIIME Platform を使用し、bioinformatics 的手法を用いて解析を行う。

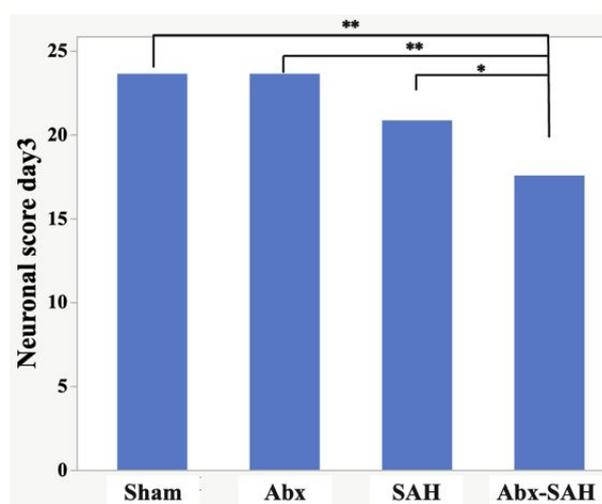


図 2 SAH 発症 3 日後の神経機能評価スコア

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〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
藤田 貢	(Fujita Mitsugu)
蔵本 要二	(Kuramoto Yoji)
栗原 舜太郎	(Kuwahara Shuntaro)
辻 翔一郎	(Tsuji Shoichiro)